

FELIPE SANTOS DALÓLIO

**CROMO METIONINA EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE CRIADOS
EM ESTRESSE CÍCLICO DE CALOR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

Dalólio, Felipe Santos, 1988-

D148c Cromo metionina em dietas para frangos de corte criados
2017 em estresse cíclico de calor / Felipe Santos Dalólio. – Viçosa,
MG, 2017.

xiii, 126f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Jadir Nogueira da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Frango de corte - Alimentação e rações. 2. Minerais na
nutrição animal. 3. Cromo. 4. Estresse. 5. Desempenho.
6. Carcaças. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Engenharia Agrícola. Programa de Pós-graduação em
Engenharia Agrícola. II. Título.

CDD 22. ed. 636.513

FELIPE SANTOS DALÓLIO

**CROMO METIONINA EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE CRIADOS
EM ESTRESSE CÍCLICO DE CALOR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 11 de dezembro de 2017.



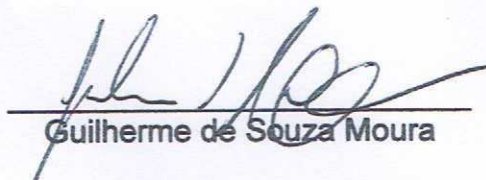
Arele Arlindo Calderano



Fernando da Costa Baêta



Luiz Fernando Teixeira Albino



Guilherme de Souza Moura



Jadir Nogueira da Silva
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo privilégio da vida e por sempre me proporcionar o que me é necessário e indispensável.

À minha mãe, Maria das Graças dos Santos, pela força e iluminação constantes e ao Edmundo por sempre me motivar a trilhar novos caminhos.

Aos meus familiares, que realmente fazem a diferença na minha vida. Em especial, aos meus avós Rosa e Hipólito, meus exemplos de vida.

A minha segunda Mãe, tia Cida, por sempre me apoiar e acreditar em mim.

Aos meus irmãos Bruno e Bárbara pela amizade sincera e verdadeira que construímos ao longo desse caminho.

Aos meus tios Rômulo e Roberto, bem como todos os seus familiares, por sempre me apoiarem em todos os aspectos.

A minhas tias Rosângela e Ana Maria, e suas respectivas princesinhas, que mesmo longe, nunca me negaram apoio e atenção.

Aos meus tios Alberto e Valter pela boa convivência e apoio constantes.

A Walquíria, por me dar Maria Clara. Minha filha querida que, desde o seu nascimento me proporciona um novo e incondicional sentido na vida, o do amor verdadeiro. Tudo da maneira mais doce possível.

Ao meu orientador professor Jadir Nogueira da Silva, pelos ensinamentos, convivência fraterna e por ter me permitido dedicar o curso sob sua orientação de forma abrangente e objetiva.

Ao meu coorientador professor Luiz Fernando Teixeira Albino, pelos ensinamentos, amizade, convivência fraterna e por ter me permitido dedicar o curso sob sua orientação.

Ao professor Paulo Roberto Cecon, pela ajuda na manipulação dos dados experimentais.

Aos professores Arele Arlindo Calderano, Fernando da Costa Baêta, e Guilherme de Souza Moura, pertencentes à banca examinadora, pelas críticas, sugestões e aceitação do convite.

A todos do Grupo Ambiagro, em especial à Prof^a Ilda Ferreira Tinôco por sempre nos incentivar ao progresso.

A Zinpro Corporation pelo financiamento, em especial à Dr^a Alba Firemam por acreditar em nosso projeto e contribuir de todas as formas para que tudo corresse bem durante a pesquisa.

A todos os antigos e atuais amigos da República Pulgatório pela boa convivência.

Aos amigos Felipe Rosa, Vitão, Cacai, João, Rogério, Mattioli, Hudson, Guilherme e Faísca que, mesmo a distância, contribuíram nessa caminhada.

Aos amigos, que também foram orientados pelo Prof Jadir na parte de Energia na Agricultura, Michael e Rúben pela ajuda, convivência e aprendizado.

Aos amigos Diego, Mariane, Diogo, Kelle, Romário, Renan, Lucimauro e Maurílio, que contribuíram diretamente na ajuda de todas as pesquisas realizadas.

A todos os funcionários do Departamento de Engenharia Agrícola e do Departamento de Zootecnia pela boa convivência e ajuda na condução das pesquisas.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Departamento de Engenharia Agrícola, pela nobre oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq, FAPEMIG e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos e pela ajuda na condução de pesquisas.

BIOGRAFIA

FELIPE SANTOS DALÓLIO, nasceu em 8 de fevereiro de 1988, filho de Maria das Graças dos Santos e Alexandre Dalólio Campos, na cidade de Goiânia, Goiás.

Em 2011 graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Minas Gerais.

Em fevereiro de 2012 iniciou o curso de pós-graduação em Zootecnia, na Área de Nutrição e Produção Animal, nível de Mestrado, na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

Em fevereiro de 2014 iniciou o curso de pós-graduação em Engenharia Agrícola, na área de Construções Rurais e Ambiente, nível de Doutorado, na Universidade Federal de Viçosa.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
2. ARTIGO 1: DIETARY CHROMIUM SUPPLEMENTATION AS A MODULATING STRATEGY IN HEAT – STRESSED BROILERS: A REVIEW.....	11
2.1 ABSTRACT.....	11
2.2 RESUMO.....	12
2.3 INTRODUCTION.....	13
2.4 PHYSIOLOGICAL AND THERMOREGULATORY RESPONSES TO HEAT STRESS.....	15
2.5 MEAT QUALITY.....	18
2.6 DESCRIPTION, ABSORPTION, EXCRETION AND BIOLOGICAL FUNCTIONS OF CHROMIUM.....	19
2.7 EFFECTS OF CHROMIUM SUPPLEMENTATION FOR BROILERS REARED IN HEAT STRESS.....	24
2.7.1 IMMUNE SYSTEM ACTIVITY.....	24
2.7.2 GROWTH PERFORMANCE.....	30
2.7.3 CARCASS CHARACTERISTICS.....	35
2.8 CONCLUSIONS.....	39
2.9 REFERENCES.....	40
3. ARTIGO 2: Desempenho e características de carcaça de frangos de corte criados em estresse cíclico por calor e alimentados com dietas suplementadas com cromo metionina.....	56
3.1 RESUMO.....	56
3.2 ABSTRACT.....	57
3.3 INTRODUÇÃO.....	58
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	60
3.5 RESULTADOS.....	68
3.6 DISCUSSÃO.....	73
3.7 CONCLUSÃO.....	79
3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
4. ARTIGO 3: Variáveis fisiológicas e expressão gênica de HSP 70 e IGF-1 de frangos de corte criados em estresse cíclico por calor e alimentados com dietas suplementadas com cromo metionina.....	88
4.1 RESUMO.....	88
4.2 ABSTRACT.....	89
4.3 INTRODUÇÃO.....	90
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	92
4.5 RESULTADOS.....	101
4.6 DISCUSSÃO.....	108
4.7 CONCLUSÃO.....	115
4.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Table 1. Effects of chromium supplementation on physiological parameters and immune function in heat-stressed broilers 25

Table 2. Effects of chromium supplementation on growth performance in heat-stressed broilers 30

Effects of chromium supplementation on carcass characteristics in heat-stressed broilers 33

Artigo 2

Tabela 1. Composição percentual da dieta basal fornecida no período de 1 a 21 dias de idade dos frangos de corte. 61

Tabela 2. Composição percentual das dietas experimentais na fase de 22 a 43 dias de idade dos frangos de corte. 64

Tabela 3. Valores médios de temperatura do ar, de umidade relativa e de índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU) durante o estresse por calor em cada semana de criação dos frangos de corte. 68

Tabela 4. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de regressão (R^2) das variáveis de peso corporal (PC), consumo de ração médio (CRM), ganho de peso médio (GPM) e conversão alimentar (CA) dos frangos de corte em todos os períodos de criação. 69

Tabela 5. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das variáveis de rendimento de carcaça e de cortes e peso absoluto da gordura abdominal de frangos de corte abatidos com 43 dias de idade. 70

Tabela 6. Valores médios de variáveis de qualidade de carne de peito dos frangos abatidos com 43 dias de idade. 72

Tabela 7. Valores médios das variáveis de peso absoluto e relativo de vísceras de frangos de corte abatidos com 43 dias de idade. 72

Artigo 3

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais na fase de 22 a 43 dias de idade dos frangos de corte. 94

Tabela 2. Sequência dos primers HSP70, IGF-1, B-actina e GAPDH. 99

Tabela 3. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) das variáveis de temperatura cloacal (TCL), 101

temperatura superficial média (TSM) e de temperatura corporal média (TCM) de frangos de corte aos 28 e 42 dias de idade.

Tabela 4. Valores médios das variáveis de peso absoluto e peso relativo de órgãos linfoides de frangos de corte abatidos com 43 dias de idade. 102

Tabela 5. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das concentrações de corticosterona (Cort.), triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) no plasma de frangos de corte com 43 dias de idade. 103

Tabela 6. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das variáveis de hemograma de frangos de corte com 43 dias de idade. 104

Tabela 7. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das variáveis de bioquímica sérica de frangos de corte aos 43 dias de idade. 105

Tabela 8. Valores médios de expressão relativa para o gene de proteína do choque térmico (HSP70) no peito de frangos de corte com 43 dias de idade. 106

Tabela 9. Valores médios de expressão relativa para o gene de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) no peito de frangos de corte com 43 dias de idade. 107

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Expressão relativa dos contrastes significativos ($P < 0,05$) para o gene HSP70 no peito de frangos de corte criados em estresse cíclico de calor e alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de Cr-metionina. 106

Figura 2. Expressão relativa dos contrastes significativos ($P < 0,05$) para o gene IGF-1 no peito de frangos de corte criados em estresse cíclico de calor e alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de Cr-metionina. 108

RESUMO

DALÓLIO, Felipe Santos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2017. **Cromo metionina em dietas para frangos de corte criados em estresse cíclico de calor.** Orientador: Jadir Nogueira da Silva.

Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de cromo metionina em dietas para frangos de corte criados em estresse cíclico de calor no período de 22 a 43 dias de idade. Foram avaliados os parâmetros de desempenho produtivo, de rendimento de carcaça e de cortes, no rendimento de vísceras e de órgãos linfoides, nas temperaturas corporais, na concentração de hormônios e de metabólitos sanguíneos e na expressão gênica de proteínas de choque térmico (HSP70) e de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1). Foram utilizados 336 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 com 21 dias de idade, distribuídos em um delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados com 4 blocos (cada câmara climática), 6 tratamentos (0; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,20 mg/kg de Cr na forma de Cr-metionina), 8 repetições e 7 aves por cada unidade experimental. Para avaliação da expressão gênica dos genes foi utilizado um total de 24 aves com 43 dias de idade que foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições para cada um dos 6 tratamentos. A regressão foi significativa ($P < 0,05$) para a variável de peso corporal aos 35 dias de idade, consumo de ração médio (CRM) no período de 22-43 dias de idade e para a conversão alimentar nos períodos de 22-28 e 22-43 dias, rendimento de peito e peso de gordura abdominal aos 43 dias. Para maior peso corporal aos 35 dias o nível de cromo-metionina recomendado é 0,64 mg/kg. Para a melhora da conversão alimentar dos frangos de corte nos períodos de 22-28 e de 22-43 recomenda-se, respectivamente, a suplementação de 1,11 e 0,53 mg/kg de Cr-metionina. Para o aumento do rendimento de peito e redução da gordura abdominal dos frangos de corte abatidos aos 43 de idade recomenda-se, respectivamente, a suplementação de 0,41 e 0,57 mg/kg de Cr na forma de Cr-metionina. Não houve efeito ($P > 0,05$) da suplementação de cromo-metionina no rendimento de carcaça, de asas, de pernas, de qualidade da carne e no peso absoluto e relativo de vísceras aos 43 dias. Não houve efeito no peso absoluto e relativo dos órgãos linfoides ($P > 0,05$). Com relação às variáveis de hemograma e de

hormônio houve aumento na concentração de heterofilos, de T3, de T4 e redução de corticosterona ($P < 0,05$), respectivamente, com comportamento quadrático para essas variáveis ($P < 0,05$). Para as variáveis de bioquímica sérica houve redução de glicose, triglicerídeos e colesterol ($P < 0,05$). Houve redução na expressão de HSP-70 ao se comparar todos os níveis de suplementação de Cr-metionina em relação ao controle. O aumento na expressão de IGF-1 ocorreu somente ao se comparar os níveis de 0,80 e de 1,20 mg/kg em relação à dieta controle. Assim, concluiu-se que a suplementação dietética de Cr na forma de Cr-metionina melhora o desempenho, reduz a gordura abdominal e atenua os efeitos adversos do estresse cíclico por calor nas variáveis fisiológicas dos frangos de corte.

ABSTRACT

DALÓLIO, Felipe Santos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, december, 2017. **Chromium methionine in diets for broiler chickens reared in cyclic heat stress**. Adviser: Jadir Nogueira da Silva.

The objective was to evaluate the effect of chromium methionine supplementation on diets for broiler chickens reared in cyclic heat stress during the period from 22 to 43 days of age. Were evaluated the parameters of productive performance, carcass yield and cuts, viscera yield and lymphoid organs, body temperatures, concentration of hormones and blood metabolites and the gene expression of heat shock proteins (HSP70) and of insulin-like growth factor (IGF-1). A total of 336 male broilers from the Cobb 500 line at 21 days of age were distributed in a completely randomized block design with four blocks (each climatic chamber), 6 treatments (0, 0.10, 0.20, 0.40; 0.80 and 1.20 mg/kg Cr as Cr-methionine), 8 replicates and 7 birds per experimental unit. To evaluate the gene expression of the genes a total of 24 birds with 43 days of age were used that were distributed in a completely randomized design with 4 replicates for each of the 6 treatments. The regression was significant ($P < 0.05$) for the body weight variable at 43 days of age, mean dietary intake (MRS) in the period of 22-43 days of age and for feed conversion in the periods of 22-28 and 22-43 days, chest yield and abdominal fat weight at 43 days. For higher body weight at 35 days the recommended chromium-methionine level is 0.64 mg/kg. In order to improve the feed conversion of broiler chickens in the periods 22-28 and 22-43, supplementation of 1.11 and 0.53 mg/kg of Cr-methionine is recommended respectively. In order to increase breast yield and reduce abdominal fat of broilers slaughtered at age 43, supplementation of 0.41 and 0.57 mg/kg of Cr in the form of Cr-methionine is recommended respectively. There was no effect ($P > 0.05$) of chromium-methionine supplementation on carcass, wing, leg, meat quality and absolute and relative viscera weight at 43 days. There was no effect on absolute and relative weight of the lymphoid organs ($P > 0.05$). In relation to the hemogram and serum biochemistry variables, there was an increase in the concentration of heterofilos, T3, T4 and

corticosterone reduction ($P < 0.05$), respectively, with quadratic behavior for these variables ($P < 0.05$). There was a reduction in HSP-70 expression when all levels of Cr-methionine supplementation were compared to the control. The increase in IGF-1 expression occurred only when the levels of 0.80 and 1.20 mg/kg were compared to the control diet. Therefore, it was concluded that dietary supplementation of Cr in the form of Cr-methionine improves performance, reduces abdominal fat and attenuates the adverse effects of cyclic heat stress on the physiological variables of broiler chickens.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A avicultura de corte tem grande destaque no agronegócio brasileiro, e produziu em 2016, 12,9 milhões de toneladas de carne de frango, que representou algo em torno de 1,5% do produto interno bruto nacional, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2016). No Brasil, esse setor avançou de forma significativa após a integralização da cadeia produtiva, na década de 80 e, principalmente, devido a maior utilização de tecnologia na atividade. Dentre os mecanismos de incremento tecnológico destacam-se os avanços no melhoramento genético, na nutrição, no manejo, na ambiência e na sanidade do rebanho, produzindo animais cada vez mais eficientes no aproveitamento dos nutrientes (DALÓLIO et al., 2016). Porém, sabe-se que a origem, do material genético dos animais utilizados no Brasil, é de países de clima temperado. Com isso o frango de corte está cada vez mais sensível às condições ambientais estressantes, como o calor (YAHAV et al., 2000; BROSSI et al., 2009).

O frango de corte é muito eficiente para converter alimentos em proteína, no entanto o mesmo se depara muitas vezes com condições adversas de estresse por temperaturas elevadas associadas com níveis inadequados de umidade relativa, ambiente típico de países tropicais (DALÓLIO et al., 2015). Tinôco (2001) afirma que no ambiente de criação, as condições térmicas representadas pela temperatura, umidade e movimentação do ar, são as que afetam diretamente as aves, devido ao fato de comprometerem a manutenção de sua homeotermia. Dessa forma, torna-se necessário estabelecer medidas para que os animais permaneçam em conforto

térmico o máximo de tempo possível, ou pelo menos tenha atenuação dos efeitos indesejáveis da exposição ao calor.

Para a máxima expressão genética dos animais é preciso que os mesmos se encontrem na zona termoneutra, onde o sistema termorregulador da ave não é acionado, seja para produzir ou dissipar calor (FERREIRA, 2011). A zona de conforto térmico das aves reduz de 35°C na primeira semana de vida para aproximadamente 23-20°C ao final do ciclo de criação (ABREU & ABREU, 2011). Contudo, os efeitos da sazonalidade ambiental e a inadequação das instalações para garantirem faixas adequadas de temperatura e de umidade no interior dos galpões, fazem com que as aves fiquem expostas ao calor, prejudicando a produção.

Durante a exposição ao estresse térmico, as aves utilizam mecanismos para dissipar o calor excedente e a temperatura elevada é o fator físico de maior importância (BAÊTA & SOUZA, 2010; SILVA et al., 2014). Dentre os processos utilizados pelo animal destaca-se em primeiro lugar a redução no consumo de ração, com consequente queda na produtividade (OLIVEIRA et al., 2006). Aliado a esse fator, aumenta-se o consumo de água, o ofego, a produção de glicocorticoides e de catecolaminas e a queda no metabolismo com redução dos hormônios da tireoide (BAHRAMI et al., 2012; CALEFI et al., 2017). A partir desses mecanismos pode-se inferir que os animais consomem alimento de acordo com sua capacidade de dissipar o calor resultante do seu metabolismo, tendo assim relação direta com as condições ambientais, os fatores genéticos e as características relacionadas ao aporte adequado de nutrientes via o fornecimento de rações para aperfeiçoar o desempenho produtivo e as características de carcaça.

Aliado a esse fato, ocorre ainda queda na resposta imune por atrofia dos órgãos linfoides, prejudicando a saúde e a sobrevivência dos animais, e aumento da peroxidação lipídica (SAHIN et al., 2001), afetando a qualidade dos produtos de origem animal (ZEFERINO et al., 2016). Além disso, ocorre aumento na síntese de proteínas do choque térmico (HSPs) que por sua vez, são responsáveis por manter a integridade celular durante o estresse por calor (FIGUEIREDO et al., 2015; CEDRAZ et a., 2017; EZZAT et al., 2017) e redução na síntese de expressão gênica de IGF-1 (DEL VESCO et al., 2013; 2015), responsável por favorecer o anabolismo celular com aumento da captação de glicose e de aminoácidos para a manutenção e deposição proteica.

A manipulação das dietas é de grande relevância para o nutricionista formular e oferecer aos animais uma ração de alta qualidade, com melhor aproveitamento dos nutrientes visando atenuar os efeitos negativos do calor (SOUZA et al., 2011). Dentre as estratégias nutricionais, a suplementação com minerais e vitaminas pode se constituir em ferramenta útil para o favorecimento do desempenho produtivo e das características de carcaça de frangos de corte em condições de estresse por calor (RIBEIRO et al., 2008; ZEFERINO et al., 2016). De acordo com Lana et al., (2000) é sabido que as altas temperaturas ambientais diminuem as concentrações de vitaminas e de minerais no soro sanguíneo, bem como, aumentam a excreção mineral em aves.

O cromo é um micromineral traço que não é adicionado comumente aos premixes minerais disponíveis no mercado. O seu uso tem sido como suplemento alimentar, com o efeito principal na estimulação da insulina e, conseqüentemente, na melhora dos parâmetros fisiológicos dos animais (VINCENT, 2000). Alguns estudos com suplementação de cromo em dietas

para frangos de corte apontam para a atenuação dos efeitos deletérios do calor com consequente melhora no desempenho produtivo, no metabolismo de nutrientes, na resposta imune, na função antioxidante e na concentração de metabólitos relacionados ao estresse térmico (SAHIN et al., 2003; OBA et al., 2012; GHAZI et al., 2012; KHAN et al., 2014; JAHANIAN & RASOULI, 2015; SAHIN et al., 2017).

De acordo com Vincent (2010) o mecanismo pelo qual o cromo aumenta a sensibilidade ao hormônio insulina deve-se a substância de ligação ao cromo de baixo peso molecular (LMWCr) ou cromodulina. A cromodulina é um olipeptídeo saturado que aumenta os efeitos da insulina estimulando a proteína tirosina quinase dependente da insulina (VINCENT, 2000). Essa estimulação ocorre sem alterar a concentração de insulina sugerindo que a cromodulina desempenha papel importante na função e na regulação da insulina (VINCENT, 2000b). De acordo com Davis et al. (1996) a ação da insulina nos adipócitos ocorre por ativação da tirosina fosfatase nas membranas celulares, o que diversifica a ação de cromo no metabolismo animal. Além disso, esta cascata de sinais intracelulares aumenta a estimulação metabólica da absorção de glicose e regula os níveis de RNAm de receptores de insulina, transportador de glicose tipo 4 (GLUT4), síntese de glicogênio e proteína de desacoplamento em células de músculo esquelético (DAVIS et al., 1996). Conseqüentemente, observa-se aumento na sensibilidade à insulina com o aumento da absorção de glicose e de aminoácidos.

Assim, acredita-se que o cromo atue em conjunto com o LMWCr estimulando a sensibilidade à insulina (VINCENT, 2000). Com isso, o metabolismo dos carboidratos é aumentado nas condições de estresse por

calor (RHOADS et al., 2013). Toghyani et al. (2006) e Sahin et al. (2010) atribuem à suplementação de cromo nas dietas, a melhora no desempenho dos frangos de corte sob condições de estresse por calor. Cupo e Donaldson (1987) relataram aumento de 16% na utilização de glicose em frangos de corte que receberam suplementação de cloreto de cromo ao nível de 2,00 mg. Diante desses fatos Mohammed et al. (2014) afirmaram que o aumento do anabolismo associado à maior absorção de glicose, aumenta as concentrações séricas de hormônio do crescimento (GH) e de fatores associados, como o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) aumentando assim, a síntese de proteínas.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de cromo metionina em dietas para frangos de corte criados em estresse cíclico de calor no período de 22 a 43 dias de idade, nos parâmetros de desempenho produtivo, no rendimento de carcaça e de cortes, no rendimento de vísceras e de órgãos linfoides, na concentração de hormônios e de metabólitos sanguíneos e na expressão gênica de proteínas de choque térmico (HSP70) e de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1).

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, V.M.N.; ABREU, P.G. Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1-14, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Relatório anual, 2016.** Disponível em: <http://abpa->

br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf

BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. 2. Ed. – Viçosa, MG: Ed. UFV, 2010. 269 p.

BAHRAMI, A.; MOEINI, M.M.; GHAZI, S.H.; TARGHIGI, M.R. The effect of different levels of organic and inorganic chromium supplementation on immune function of broiler chicken under heat-stress conditions. **Journal Applied Poultry Science Research**, v. 21, n. 2, p. 209-215, 2012.

BROSSI, C.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; AMAZONAS, E. A.; MENTEN, J. F. M. Estresse térmico durante o pré-abate em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, 1284-1293, 2009.

CALEFI, A.S.; QUINTEIRO-FILHO, W.M.; FERREIRA, A.J.P.; PALERMONETO, J. Neuroimmunomodulation and heat stress on poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 3, 493-504, 2017.

CEDRAZ, H.; GROMBONI, J.G.G.; GARCIA JUNIOR, A.A.P.; FARIAS FILHO, R.V.; SOUZA, T.M.; OLIVEIRA, E.R.; OLIVEIRA, E.B.; NASCIMENTO, C.S.; MENEGHETTI, C.; WENCESLAU, A.A. Heat stress induces expression of HSP genes in genetically divergent chickens. **PLoS ONE**, v. 12, n. 10, p. 1-15, 2017.

CUPO, M.A.; DONALDSON, W.E. Chromium and vanadium effects on glucose metabolism and lipid synthesis in the chick. **Poultry Science**, v. 66, n.1, p. 120-126, 1987.

DALÓLIO, F.S.; ALBINO, L.F.T.; LIMA, H.J.D.; SILVA, J.N.; MOREIRA. Heat stress and vitamin E in diets for broilers as a mitigating measure. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 37, n. 4, p. 419-427, 2015.

DALÓLIO, F.S.; MOREIRA, J.; COELHO, D.J.R.; SOUZA, C.F. Caracterização bioclimática de um galpão experimental de criação de frangos de corte na região de Diamantina-MG. **Engenharia na Agricultura**, v. 24, n. 1, p. 22-31, 2016.

DAVIS, C.M.; SUMRALL, K.H.; VINCENT, J.B. The biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). **Biochemistry**, v. 35, n. 39, p. 12963-12969, 1996.

DEL VESCO, A.P.; GASPARINO, E.; OLIVEIRA NETO, A.R.; GUIMARÃES, S.E.F.; MARCATO, S.M.M.; VOLTOLINI, D.M. Dietary methionine effects on IGF-1 and GHR mRNA expression in broilers. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 6414-6423, 2013.

DEL VESCO, A.P.; GASPARINO, E.; GRIESER, D.O.; ZANCANELA, V.; VOLTOLINI, D.M.; KHATLAB, A.S.; GUIMARÃES, S.E.F.; SOARES, M.A.M.; OLIVEIRA NETO, A.R. Effects of methionine supplementation on the expression of protein deposition-related genes in acute heat stress-exposed broilers. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. 1-11, 2015.

FERREIRA, R.A. **Maior produção com melhor ambiente: para aves, suínos e bovinos**. 2ªed. Viçosa, MG: Editora Aprenda Fácil, 2011. 401 p.

FIGUEIREDO, E.M.; DONZELE, R.F.M.O.; DONZELE, J.L.; SOUSA, K.R.S.; CARDOSO, E.F.; SÉLOS, A.N.; SILVA, A.D.; JACOB, R.F. Glutamina para frangos de corte mantidos em termoneutralidade dos 21 aos 42 dias. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1633-1642, 2015.

GHAZI, S.H.; HABIBIAN, M.; MOEINI, M.M. Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of

broilers under heat stress. **Biological Trace Element Research**, v. 146, p. 309-317, 2012.

JAHANIAN, R.; RASOULI, E. Dietary chromium methionine supplementation could alleviate immunosuppressive effects of heat stress in broiler chicks. **Journal Animal Science**, v. 93, p. 3355-3363, 2015.

KHAN, R.U.; NAZ, S.; DHAMA, K. Chromium: pharmacological applications in heat-stress in poultry. **International Journal of Pharmacology**, v. 10, n. 4, p. 213-217, 2014.

LANA, G.R.Q.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; LANA, A.M.Q. Efeito da temperatura ambiente e restrição alimentar sobre o desempenho e composição de corporal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1117-1123, 2000.

MOHAMMED, H.H.; EL-SAYED, M.B.; EL RAZIK, W.M.A.; ALI, M.A.; ABD EL-AZIZ, R.M. The influence of chromium sources on growth performance, economic efficiency, some maintenance behaviour, blood metabolites and carcass traits in broiler chickens. **Global Veterinaria**, v. 12, n. 5, p. 599-605, 2014.

OBA, A.; LOPES, P.C.F.; BOIAGO, M.M.; SILVA, A.M.S.; MONTASSIER, H.J.; SOUZA, P.A. Características produtivas e imunológicas de frangos de corte submetidos a dietas suplementadas com cromo, criados sob diferentes condições de ambiente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.5, p. 1186-1192, 2012.

OLIVEIRA, R.F.M; DONZELE, J.L.; ABREU, M.L.T.; FERREIRA, R.A.; VAZ, R.G.M.; CELLA, P.S. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o

desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p. 797-803, 2006.

RHOADS, R.P.; BAUMGARD, L.H.; SUAGEE, J.K.; SANDERS, S.R. Nutrition interventions to alleviate the negative consequences of heat stress. **Advances in Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 267-276, 2013.

RIBEIRO, A.M.L.; VOGT, L.K.; CANAL, C.W.; LAGANÁ, C.; STRECK, A.F. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos e sua ação sobre a imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.636-644, 2008.

SAHIN, K.; KÜÇÜK, O.; SAHIN, N. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on performance and plasma concentrations of insulin and corticosterone in laying hens under low ambient temperature. **Journal of Animal Physiology and Nutrition**, v.85, p.142-147, 2001.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; KÜÇÜK, O. Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high environmental temperature (32°C). **Nutrition Research**, v. 23, p. 225-238, 2003.

SAHIN, N.; AKDEMIR, F.; TUZCU, M.; HAYIRLI, A.; SMITH, M.O.; SAHIN, K. Effects of supplemental chromium sources and levels on performance, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in heat-stressed quails. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, p. 143-149, 2010.

SAHIN, N.; HAYIRLI, A.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; AKDEMIR, F.; KOMOROWSKI, J.R.; SAHIN, K. Effects of the supplemental chromium form on performance and oxidative stress in broilers exposed to heat stress. **Poultry Science**, 0, 1-8, 2017.

SILVA, S.R.G.; ABREU, M.L.T.; LOPES, J.B.; LEAL, D.I.B.; ALMENDRA, S.N.O.; SILVA, S.M.M.S.; COSTA, E.M.S. Desempenho e resposta imune de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com cromo na forma orgânica. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 21, n. 3, p. 199-203. 2014.

SOUZA, M.G.S.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L.; MAIA, A.P.A.; BALBINO, E.M.; OLIVEIRA, W.P. Utilização das vitaminas C e E em rações para frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2192-2198, 2011.

TINÔCO, I.F.F. Avicultura Industrial: Novos conceitos de materiais, concepções e técnicas construtivas disponíveis para galpões avícolas Brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, n.1, p1-26, 2001.

TOGHYANI, M.; SHIVAZAD M.; GHEISARI, A. Chromium supplementation can alleviate the negative effects of heat stress on growth performance, carcass traits, and meat lipid oxidation of broiler chicks without any adverse impacts on blood constituents. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 2, p. 171-80, 2012.

VINCENT, J.B. The biochemistry of chromium. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 715-718, 2000.

VINCENT, J.B. Chromium: celebrating 50 years as an essential element? **Dalton Transactions**, v. 39, n. 16, p. 3787-3794, 2010.

ZEFERINO, C.P.; KOMIYAMA, C.M.; PELÍCIA, V.C.; FASCINA, V.B.; AOYAGI, M.M.; COUTINHO, L.L.; SARTORI, J.R.; MOURA, A.S.A.M.T. Carcass and meat quality traits of chickens fed diets concurrently supplemented with vitamins C and E under constant heat stress. **Animal**, v. 10, p. 163-171, 2016.

2. ARTIGO 1: Dietary chromium supplementation as a modulating strategy in heat-stressed broilers: A review

Abstract

In recent years, heat stress has been suggested as a major factor which impacts physiology, performance and the immune function of broilers. It results in lower profitability and sustainability of the sector. On the other hand, studies have shown that dietary chromium supplementation beneficially affects physiological functions such as cell preservation, antioxidant activity and immune response that are of utmost importance to animal homeostasis and thermoregulatory capacity under heat stress conditions. For instance, chromium is essential for synthesis of the specific low molecular weight chromium-binding-substance (LMWCr) that upon conversion to chromodulin, activates the insulin signaling cascade. This results in greater cell permeability to insulin, with a subsequent positive effect on the metabolism of carbohydrates, lipids and proteins. Furthermore, chromium has antioxidant properties which help to attenuate the negative effects of oxidative stress. With regards to the meat, chromium decreases lipid peroxidation and has beneficial effects on meat quality, with decreased abdominal fat. It has also been suggested that chromium supplementation increases antibody responses and lymphocyte counts in broiler chickens exposed to high environmental temperatures. In addition, trivalent chromium supplementation increases growth performance and decreases the circulating levels of undesirable metabolites and hormones such as cholesterol and corticosterone in broiler chickens exposed to heat stress. The aim of this review was therefore to report the effects of chromium

supplementation as a nutritional strategy to increase growth performance, immune response, carcass characteristics and meat quality of broilers produced under heat stress conditions. This knowledge may contribute to improve the productivity and sustainability of broiler production in a context of global warming and development of livestock production in hot climate areas.

Key words: poultry, carcass characteristics, growth performance, immune system.

Suplementação de cromo na dieta como estratégia moduladora para frangos de corte em estresse por calor: Uma revisão

Resumo

Nos últimos anos, o estresse térmico tem sido sugerido como um fator importante que afeta a fisiologia, o desempenho e a função imune dos frangos de corte. Isso resulta em menor rentabilidade e sustentabilidade do setor avícola. Por outro lado, estudos demonstraram que a suplementação dietética de cromo efetivamente afeta funções fisiológicas, tais como preservação celular, atividade antioxidante e resposta imune, que são de extrema importância para a homeostase animal e capacidade termorreguladora sob as condições de estresse por calor. Por exemplo, o cromo é essencial para a síntese da substância específica de ligação a cromo de baixo peso molecular (LMWCr) que após a conversão em cromodulina, ativa a cascata de sinalização de insulina. Isso resulta em maior permeabilidade celular à insulina, com efeito positivo subsequente no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. Além disso, cromo possui propriedades antioxidantes que ajudam a atenuar os efeitos negativos do estresse oxidativo. Com relação à carne, o cromo diminui

a peroxidação lipídica e tem efeitos benéficos sobre a qualidade da carne, com diminuição da gordura abdominal. Também foi sugerido que a suplementação de cromo aumenta as respostas de anticorpos e a contagem de linfócitos em frangos de corte expostos a altas temperaturas ambientais. Além disso, a suplementação cromo trivalente aumenta o desempenho produtivo e diminui os níveis circulantes de hormônio e de metabólitos indesejáveis, como corticosterona e colesterol em frangos de corte expostos ao estresse por calor. O objetivo desta revisão foi, portanto, relatar os efeitos da suplementação de cromo como uma estratégia nutricional para aumentar o desempenho produtivo, a resposta imune, o rendimento da carcaça e a qualidade da carne dos frangos de corte produzidos sob condições de estresse por calor. Este conhecimento pode contribuir para melhorar a produtividade e a sustentabilidade da produção de frangos de corte em um contexto de aquecimento global e desenvolvimento de produção pecuária em áreas climáticas quentes.

Palavras-chave: avicultura, características de carcaça, desempenho produtivo, sistema imune.

Introduction

The broiler industry is one of the most important fields of livestock production contributing to the human food supply. It has been significantly developed in recent decades due to major advances in breeding, nutrition, management, environment, health as well as mechanization and technification of production processes (DALÓLIO et al., 2016a). Furthermore, broiler

production is increasing every year due to a greater demand for low-cost and high nutritional value meat (DALÓLIO et al., 2016b). However, the increase in broiler production is occurring mainly in developing countries which tend to be located in tropical and subtropical areas in which animals are often exposed to heat stress conditions (DAGHIR, 2009).

When exposed to heat stress, broilers maintain their body temperature via thermoregulatory responses that negatively impact growth performance and metabolism, resulting then in important economic losses (RENAUDEAU et al., 2012). In addition, it has been strongly suggested that the negative effects of heat stress will increase in the coming decades due to increasing temperatures associated with global warming. Broiler chickens have been genetically selected to improve growth and muscle deposition therefore they seem to be more susceptible to high temperatures, in relation to previous strains, because of their greater metabolic heat production (BROSSI et al., 2009; DALÓLIO et al., 2015).

Among the strategies used to attenuate the negative effects of heat stress in broiler production systems, different approaches including the use of air conditioning, ventilation and evaporative cooling systems, management of drinking water, vitamin and mineral supplementation and variation of the dietary electrolyte balance have been employed (BORGES et al., 2003; GAMBA et al., 2015). The use of low heat increment diets through the reduction of dietary crude protein content and inclusion of fat is one of the nutritional strategies most studied and utilized under commercial/practical conditions (SILVA et al., 2014). During heat stress, a reduction in the circulating levels of vitamins and minerals is observed, which may be associated with low feed intake and high water

consumption by the broilers. Furthermore, the antioxidant capacity in heat-stressed broilers is reduced in association with the decreases in glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase synthesis (ALTAN et al., 2003). In contrast, positive effects of dietary mineral and vitamin supplementation under heat stress conditions have been reported (BORGES et al., 2003; KHAN et al., 2012). These dietary supplementations with vitamins and minerals are able to reduce cellular oxidation reactions (SILVA et al., 2015).

Research has supported the use of chromium supplementation as a nutritional strategy to improve growth performance (GHAZI et al., 2012), nutrient metabolism (SAHIN et al., 2003; JAHANIAN & RASOULI, 2015), immune responses (OBA et al., 2012), antioxidant function and stress response (GHAZI et al., 2012; KHAN et al., 2014) in broiler chickens exposed to heat stress. The objective of this review is therefore to present chromium as a strategy for mitigating the negative effects of heat stress in livestock production systems.

Physiological and thermoregulatory responses to heat stress

Broiler chicken are homeothermic animals that maintain their internal body core temperatures near 41.5°C (GILOH et al., 2012) despite wide variations in the ambient temperature. Body temperature is controlled by the thermoregulatory center in hypothalamus, which integrates and processes thermal inputs from receptors in the brain, blood, spinal cord, tissues and skin surface, and then controls thermoregulatory responses to decrease, increase, conserve or dissipate metabolic heat production (KURZ, 2008).

The optimal ambient temperature for broiler development corresponds to 32-35°C in the first week of life, 29-32°C in the second week, 26-29°C in the third week and 20-25°C thereafter (ABREU & ABREU, 2011). When exceeding these temperature ranges broilers maintain homeothermy primarily through sensory pathways such as radiation, conduction and convection (BAËTA & SOUZA, 2010). For instance, broilers increase sensory heat loss by increasing surface area, holding their wings out away from the body, ruffling feathers and intensifying peripheral circulation to tissues that are not covered by feathers such as the feet, comb and wattle (DALÓLIO et al., 2015), as well as increasing water consumption (BORGES et al., 2007). However, because sensory heat loss depends on a thermal gradient, it becomes less efficient when ambient temperatures approach the body temperature. Broilers thus have to dissipate heat through respiratory evaporative losses by using the mechanism to increase ventilation of the upper respiratory tract, i.e. panting. According to Furlan & Macari (2002), a 10-fold increase in the respiratory rate can be observed in broilers exposed to heat stress conditions. In this situation, broilers can develop transitory or chronic respiratory alkalosis due to excessive exhalation of carbon dioxide and a subsequent decrease in blood carbon dioxide concentrations (BORGES et al., 2003). This event increases in blood pH, resulting in physiological disturbances such as changes in intracellular and extracellular osmolarity of plasma cells.

In hot environmental conditions animals reduce feed intake to reduce metabolic heat production associated with feed intake, digestion, absorption, metabolism and excretion, known as the thermic effect of feeding. Consequently, the growth rate and overall productivity is lower (OLIVEIRA et

al., 2006). Bahrami et al. (2012) reported a concomitant decrease in feed intake and circulating levels of thyroid hormones, well as increases in water intake, the respiratory rate and synthesis of glucocorticoids and catecholamines in heat-stressed broilers. Therefore, the reduced growth performance of heat-stressed broilers may be partially explained by the reduction in feed intake but also by metabolic adjustments such as a decrease in thyroid hormones and increase in corticosterone and lipid peroxidation (SAHIN et al., 2009; QUINTEIRO-FILHO et al., 2010). An increase in serum concentrations of corticosterone during heat exposure results in increased catabolism, involution of the lymphoid tissue (thymus, spleen and bursa) and suppression of humoral immunity (ROSALES et al., 1989; RIBEIRO et al., 2008; GHAZI et al., 2012).

The circulatory system is particularly sensitive to changes in temperature and it is an important indicator of physiological alterations to stressors. For instance, quantitative and morphological changes in blood cell components such as hematocrit values and circulating groups of leucocytes and erythrocytes have been associated with heat stress in broiler chickens (BORGES et al., 2003). In stressful situations, the number of circulating lymphocytes is reduced, resulting in an increased heterophil/lymphocyte ratio (FURLAN & MACARI, 2002). Accordingly, Altan et al. (2003) reported a greater number of heterophils and changes in the heterophil/lymphocyte ratio in broilers exposed to high environmental temperatures (38°C). The increasing in amount of heterophils, as well as changes in the heterophil/lymphocyte ratio, have has been used as an important indicator of chronic heat stress in broilers (ROLL et al., 2010).

In general, ambient temperatures above 30°C are considered sufficient to induce heat stress in broilers, which negatively impacts body weight, feed intake and feed efficiency (SAMANTA et al., 2008). According to Khan et al. (2014), environmental temperatures above 31°C cause depletion of antioxidant reserves of the animal and increase lipid peroxidation in the plasma and liver. It is also reported that heat stress triggers secretion of the pro-inflammatory cytokines such as interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha, and the C-reactive protein (SAHIN et al., 2001). High levels of corticosterone, induced by heat stress, cause excessive reactive oxygen species (ROS) and suppression of interleukin-2 (SIEGEL, 1995; RAO et al., 2016); consequently impairing the immune response of broilers chickens.

Meat quality

Heat stress has been reported to increase lipid peroxidation (SAHIN et al., 2001; 2010) thereby negatively affecting carcass and meat quality (ZHANG et al., 2014; BURGOS et al., 2016). It has also been associated with a higher incidence of pale, soft and exudative (PSE) meat (ZHANG et al., 2012; ZEFERINO et al., 2016) due to its effect on accelerating the postmortem glycolytic metabolism (RIMOLD et al., 2015). The PSE meat is characterized by undesirable functional properties such as pale color and low water retention capacity (GARCIA et al., 2010). These characteristics result in low acceptance of the meat by both the food industry and consumers (OLIVO et al., 2001; HASHIZAWA et al., 2013).

Description, absorption, excretion and biological functions of chromium

Chromium is a trace mineral present in small amounts in the raw ingredients commonly used in broiler diets, such as grains and oilseeds (ANDERSON et al., 1992). It is a metal element found in the oxidation states (2^- , 0 , 2^+ , 3^+ , 6^+), but the trivalent form (3^+) is the most stable form. In this state, it is recognized as an essential trace element required for the metabolism of carbohydrates, proteins and lipids (VINCENT, 2000a).

Different factors affect chromium absorption (SIRIRAT et al., 2012), however it is well accepted that organic sources are more available and better absorbed than inorganic sources (LUKASKI 1999; ZHA et al., 2009). Inorganic sources of chromium show the lower bioavailability (1 to 3%) (HOSSAIN et al., 1998) than organic sources (15 to 30%) (OBA et al., 2012). The higher bioavailability of organic chromium sources can be explained by chelation of the mineral with yeasts, amino acids or other compounds. Organic chromium is usually found as chromium-L-methionine, chromium-picolinate, chromium-nicotinic acid complex, chromium-yeast and chromium-histidinate (SAHIN et al., 2010; 2017). Although chromium absorption mechanisms are not yet well understood, it is hypothesized that Cr absorption occurs in the first portion of the jejunum and in combination with the chelated elements (KHAN et al., 2014). Chen et al. (1973) reported a small amount of chromium absorbed in the ileum and duodenum of rats.

The absorption and excretion of chromium is inversely proportional to the level of supplementation in the diet (ANDERSON et al., 1992), and its excretion occurs almost exclusively through the urinary system (PECHOVA & PAVLATA,

2007). According to Hunt and Stoecker (1996), chromium absorption is increased in the presence of amino acids, ascorbic acid and high carbohydrate diets; while phytates decrease chromium concentrations in the blood and tissues. Chen et al. (1973) reported that chromium-oxalate showed high chromium absorption in rats. However, its absorption was decreased in the presence of phytic acid. Furthermore, chromium can compete with other minerals (e.g., zinc and iron) for the same absorption sites, which influences its absorption in the gut. In the bloodstream, chromium primarily circulates bound to transferrin (VINCENT, 2010; EZE et al., 2014); however, some studies have reported that chromium can also be transported by albumin (BORGUET et al., 1990).

The function and recycling of transferrin is dependent on insulin that stimulates the translocation of transferrin receptors from the vesicles towards the membrane of insulin responsive cells (KANDROR, 1999). An increase in the number of membrane receptors, saturated with transferrin-chromium, stimulates endocytosis and subsequent release of the metal ion into the acid pH of the newly formed vesicles (VINCENT, 2000b). Vincent (2000a; 2010) described the mechanism of increased insulin sensitivity caused by the low-molecular weight chromium-binding-substance (LMWCr). The LMWCr is composed of glycine, cysteine, glutamate and aspartate with the carboxylates comprising more than half of the total amino acid residues (YAMAMOTO et al., 1987; DAVIS & VINCENT 1997a). Davis & Vincent (1997b) evaluated the effects of various minerals (V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn and Mo) on the activation of rat adipocyte membrane protein kinase activity using fragments of gastrin as substrate associated with apoLMWCr in the presence of insulin. These authors

identified that only chromium was able to stimulate the insulin dependent protein kinase and concluded that this stimulus is directly dependent on the concentration of chromium.

Chromodulin is a saturated oligopeptide that enhances the effects of insulin by stimulating protein tyrosine kinase dependent on insulin (VINCENT, 2000a). This stimulation occurs without changing the insulin concentration, suggesting that chromodulin plays an intrinsic role in insulin function and regulation (VINCENT, 2000b). According to Davis et al. (1996) insulin action on adipocytes occurs by activation of the phosphotyrosine phosphatase in cell membranes, which diversifies the action of chromium in animal metabolism. Moreover, this cascade of intracellular signals increases the metabolic stimulation of glucose uptake, and up regulates mRNA levels of the insulin receptor glucose transporter type 4 (GLUT-4), glycogen synthase and uncoupling protein-3 in skeletal muscle cells (DAVIS et al., 1996). Consequently, an increase in insulin sensitivity with consequent increased uptake of glucose and amino acids is observed. It is believed that chromium acts jointly with the LMWCr stimulating insulin sensitivity (VINCENT 2000a; 2000b); however this is only consensus in studies involving rats and humans; because glucose metabolism in broilers is different from mammals, with glucose concentration becoming high and insulin level low (BROOKS et al., 2016). White et al. (1991) and Wang et al. (1994) state that birds only have GLUT-1, 2, 3 and 8. However, Sahin et al. (2017) identified GLUT-4 expression in the liver of broilers raised on heat stress with dietary chromium supplementation in the diet. Thus, the need for the emergence of researches to clearly elucidate the biological mechanisms of action of chromium.

Due to the metabolism of carbohydrates in animals is increased in heat stress conditions (RHOADS et al., 2013). It is believed that there may be greater circulating insulin in the postprandial period as a consequence of a greater contribution of circulating blood glucose. Based on this reasoning, Toghyani et al. (2006) and Sahin et al. (2010) state that this is the cause for the improvement of performance of broiler chickens raised under heat stress conditions. In agreement, Cupo & Donaldson (1987) reported a 16% increase in glucose utilization in broilers receiving a 20 ppm supplemental of chromium-chloride, which resulted in increased cell sensitivity to insulin and consequently greater glucose uptake in the muscle and adipose tissues. The increase in anabolism, associated with greater glucose uptake, increases serum concentrations of growth hormone and associated factors such as insulin growth factor-1, increasing the synthesis of proteins (MOHAMMED et al., 2014). Hazelwood (1986) argues that the importance of insulin in the metabolism of broiler chickens is questionable and does not work as in mammals, and therefore evidence of its direct effect on lipid metabolism should be viewed with caution.

According to Jackson et al. (2008) supplementation with 0.80 mg/kg with chromium as chromium-propionate in broiler diets increased feed efficiency from 15 to 42 days of age due to the increased glucose use by the liver and the skeletal musculature. Increased insulin sensitivity and greater glucose metabolism in response to chromium supplementation decreased the process of gluconeogenesis in the liver, saving amino acids for growth and protein deposition (LEE et al., 2003; SOUZA et al., 2010). Chromium supplementation in the form of chromium-propionate (0.43-0.45 mg/kg) to broiler diets increased

insulin activity and optimized the use of glucose, resulting in the lower serum concentrations of non-esterified fatty acids by reducing lipolysis (BROOKS et al., 2016). According to Gursoy (2000) supplementation of organic chromium in broiler diets improved feed efficiency and carcass quality while reducing the fat content. This fact was also observed by Dębski et al. (2004), who reported an increase in weight of breast meat when 0.20 mg/kg of chromium as chromium-yeast was added to the broiler diet.

Past studies reported that LMWCr and cromodulin act as the chromium carriers (VINCENT 2000b; VINCENT, 2010), carrying this mineral towards deficient proteins and enhancing cell membrane fluidity (EVANS & BOWMAN, 1992). Therefore, insulin metabolism influences the peroxidation of lipids, and Cr, as an insulin cofactor, acts as a secondary antioxidant (KRÓLICZEWSKA et al., 2004). Consequently, broilers exposed to high temperatures may present greater immune response and lower meat deterioration by reducing the formation of peroxides.

Supplementation with 0.50 mg/kg of chromium as chromium-yeast in the diet of broilers decreased serum levels of total cholesterol, low-density-lipoprotein (LDL), triglycerides and glucose, and increased high-density-lipoprotein (HDL) levels in association with greater body weights, weight gain and feed efficiency (KRÓLICZEWSKA et al., 2004). Xiao et al. (2016) evaluated different levels of chromium as chromium-propionate (0.20, 0.40, 0.80, 1.60 mg/kg) in the diets for broiler chickens raised under heat stress (35°C) during the period from 21 to 42 days and reported a linear decrease in serum levels of triglyceride and LDL. Souza et al. (2010) suggested this probably occurred

because Cr acts to inhibit the enzyme hydroxymethyl-CoA reductase responsible for the synthesis cholesterol. In agreement, Souza et al. (2010) reported a 6.53% reduction in total cholesterol in breast meat from broilers supplemented with chromium-picolinate.

Effects of chromium supplementation for broilers reared in heat stress

Immune system activity

Heat stress provokes negative effects on growth performance, immune system activity and nutrient absorption of broiler chickens (RIMOLD et al., 2015). Khan et al. (2014) reported that the use of chromium causes the physiological changes such as the relative decrease in corticosterone concentrations, greater immune function and attenuation of oxidative stress in broilers reared under heat stress. According to Bahrami et al. (2012), supplementation with 1.20 mg/kg of chromium as chromium-methionine in the diets of heat-stressed broilers (33°C) decreased serum concentrations of corticosterone. These authors also reported that supplementation with 1.20 mg/kg of chromium as chromium-methionine increased the antibody response when broilers were challenged with Newcastle disease. Corticosterone has suppressive effect on broiler chickens and decreases insulin sensitivity, directly affecting nutrient metabolism (ZHAO et al., 2009). In the sense, the reduction in concentration of corticosteroids caused by chromium supplementation is the main cause of the greater immune response in broilers under heat stress (SIEGEL, 1995). According to Mirfendereski & Jahanian (2015) cortisol impairs the function of lymphocytes and decreases the proliferation of leukocytes. Increasing amounts of pro-inflammatory cytokines decrease antibody titers and

lymphoid organs, and also enhance the synthesis of corticosterone in heat-stressed broilers (OGLE et al., 1997).

According to Calefi et al. (2017) there is a direct connection (neuroimmunomodulation) between the central nervous system, the endocrine system and the immune system that, through stressors such as heat, share efferent responses through various substances such as hormones, neurotransmitters, neuropeptides, cytokines and growth. Based on this, Sahin et al. (2017) found that supplementation with 0.78 mg/kg of chromium as chromium-histidine for broilers reared in heat stress influenced the expression of growth factors considered as biomarkers of oxidative stress, with increase in hepatic Nrf2 expression and reduction on NF- κ B expression in the breast muscle. Nrf2 is involved in the transcription of several genes that condition oxidative enzymes. And NF- κ B is linked to the transcription of genes involved in the coding of stress-related cellular responses (cytokines and free radicals). These facts indicate that the physiological mechanisms of the reaction of the broilers to the heat stress are multifactorial and have direct reflexes in the immune of the broilers and later performance. Table 1 summarizes the effects of chromium supplementation on physiological parameters and immune function in heat-stressed broilers.

Table 1. Effects of chromium supplementation on physiological parameters and immune function in heat-stressed broilers

Chromium (Cr) source	ED (mg/kg)	Results	References
----------------------	------------	---------	------------

Cr-picolinate	0.20-1.20	Linear effect with decrease** in corticosterone and increase** in insulin, T3 and T4	Sahin et al., 2002
Cr-picolinate	1.00	Increase* in hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration	Toghyani et al., 2006
Cr-picolinate	1.50	Increase* in immunoglobulin G concentration and increase* in antibody titers against influenza virus and Newcastle.	Toghyani et al., 2007
Cr-picolinate	0.50	Decrease* in serum concentrations of glucose, protein, cortisol and cholesterol	Samanta et al., 2008
Cr-nicotinic	1.50	Decrease* in serum concentrations of glucose and TG	Toghyani et al., 2012
Cr-methionine	0.80	Increase* in serum concentration of HDL and decrease* in LDL, cholesterol and TG	Noori et al., 2012
Cr-methionine	0.80	Increase* in serum concentration of antibody titers for Newcastle and infectious bronchitis, increase* in antibody production, and decrease* in H/L	Ebrahimzadeh et al., 2012
Cr-methionine	1.20	Increase* in the immune response in broilers challenged with influenza and Newcastle virus. Increase* in immunoglobulin G and decrease* in corticosterone	Bahrami et al., 2012
Cr-methionine	1.20	Increase** in the antibody response and decrease* in H/L. Increase in RWT** and RWS*	Ghazi et al., 2012
Cr-chloride	2.00	Increase** in the immune response to Newcastle disease virus vaccine	Norain et al., 2013
Cr-methionine	1.20	Decrease* in cholesterol concentration	Habibian et al., 2013
Cr-chloride	1.20	Increase* in insulin concentration	Perai et al., 2014
Cr-propionate	1.00 - 3.20	Quadratic increase** in antibody response for Newcastle vaccination	Rajalekshmi et al., 2014

and decrease* in H/L ratio			
Cr-yeast	0.50	Decrease* in content of glucose and cholesterol	Mohammed et al., 2014
Cr-methionine	0.50	Increase* in response to the Newcastle virus and decrease** in corticosterone	Jahanian & Rasouli 2015
Cr-yeast	2.00	Increase* in SOD activity and decrease* in lipid peroxidation	Rao et al., 2016
Cr-propionate	0.80-1.60	Linear decrease** in serum TG and LDL	Xiao et al., 2016
Cr-histidinate	0.788	Increase** expression of GLUT-4 and Nrf2 in the muscle and GLUT-2 in the liver. Decrease** NF-κB. Increase in serum concentrations of glucose, cholesterol, creatine, and enzymes (AST, ALT, GGT, LDH and CK)	Sahin et al., 2017

Abbreviations used: ED, effective doses; T3, triiodothyroxine; T4, thyroxine; H/L, heterophil/lymphocyte ratio; RWT, relative weight of thymus; RWS, relative weight of spleen; SOD, superoxide dismutase; GLUT-2, glucose transponder 2; GLUT-4, glucose transponder 4; Nrf2, nuclear factor erythroid 2-related factor 2; NF-κB, nuclear factor kappa B; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; GGT, γ-glutamyl transferase; LDH, lactate dehydrogenase; CK, creatine kinase *, (P<0.05); **, (P<0.01)

Sahin et al. (2003) reported an increase in T3 and T4 concentrations, a decrease in lipid peroxidation and improved carcass characteristics of heat-stressed broilers (32°C) fed 0.40 mg/kg of chromium as chromium-picolinate with or without inclusion of 250 mg/kg of vitamin C to the diet. Vitamin C has been reported to decrease production and increase degradation of plasma glucocorticoids in broilers reared under cyclic heat stress (30°C) (MAHMOUD et al., 2004). Due to its antioxidant action, supplementation with 0.40 mg/kg of chromium as chromium-propionate increased humoral immunity in broilers reared in high ambient temperatures (EZE et al., 2014). In addition, Cao et al.

(2004) reported that supplementation with 0.20 to 0.40 mg/kg of chromium as chromium-chloride in broiler diets stimulated production of antibodies against Newcastle virus disease (CAO et al., 2004). This mechanism of action is still poorly understood; however, mRNA expression was increased through interferon-gamma synthesis in broilers supplemented with chromium (BHAGAT et al., 2008). Ghazi et al. (2012) observed that supplementation with 1.20 mg/kg of chromium as chromium-methionine for broilers under cyclic heat stress (37°C) induced a two-fold reduction in the heterophil/lymphocyte ratio.

Heat stress also induces oxidative stress and cellular damage (unfolding, aggregation, and apoptosis) (RHOADS et al., 2013). According to Sahin et al. (2009), the production of heat shock proteins (HSPs) and reactive oxygen species (ROS) indicates a physiological response of the organism to prevent heat induced damage. Supplementation with 0.80 mg/kg of chromium as chromium-histidinate increases the cellular function and decreases oxidative stress by a reduction of 27.2 and 55.6% in the expression of HSPs in Japanese quails reared under cyclic heat stress (34°C) compared the control group (22°C) (AKDEMIR et al., 2015). The decrease in expression of HSPs is associated with the lower production of ROS, which would attenuate the deleterious effects caused by heat stress. To our knowledge, there are no studies with broilers evaluating HSP expression due to chromium supplementation in broilers diets.

Growth performance

Heat stress decreases feed intake and increases water consumption. Oliveira et al. (2006) observed a 31% lower feed intake in heat-stressed broilers (32°C) compared to those housed in thermoneutral conditions (25°C). Bruno et al. (2011) observed a 28% increase in water intake in broilers reared in a hot environment (34°C) compared to those in thermoneutral (25°C) conditions. According to Sands & Smith (1999), supplementation with 0.40 mg/kg of chromium as chromium-picolinate increased weight gain and the feed conversion ratio in broilers independent of their environment. Rajalekshmi et al. (2014) also reported positive effects of chromium-propionate supplementation on growth performance in heat-stressed broilers. According to Jahanian & Rasouli (2015), heat stress increases chromium urinary excretion, resulting in marginal deficiency. Therefore, chromium supplementation is highly recommended when broilers are exposed to heat stress.

According to Oba et al. (2012), supplementation with 0.40 to 1.20 mg/kg of chromium as chromium-yeast increased the feed conversion ratio and immune response by increasing hemagglutination values in broilers reared under heat stress (32°C). Toghyani et al. (2012) reported 4% greater feed efficiency in broilers exposed to high ambient temperatures (33°C) fed diets supplemented with 1.50 mg/kg of chromium as chromium-nicotinic compared to those fed diets without chromium supplementation. Heat stress induced an increase in corticosterone, impaired growth performance, increased water intake and induced disturbances in the osmolarity and pH of the digestive tract (PUVADOLPIROD & THAXTON, 2000). Samanta et al. (2008) evaluated supplementation with 0.50 and 1.00 mg/kg of chromium as chromium-picolinate in broilers exposed to high temperatures (35°C) and reported greater feed

efficiency with 0.50 mg/kg of chromium as chromium-picolinate supplementation. Table 2 summarizes the effects of chromium supplementation on growth performance in heat-stressed broilers.

Table 2. Effects of chromium supplementation on growth performance in heat-stressed broilers

Chromium (Cr) source	ED (mg/kg)	Days of age	N	Results	References
Cr-picolinate	1.20	21-42	150	Increase* in FI and WG	Sahin et al., 2002
Cr-picolinate	1.00	21-42	240	Increase* in FI and WG	Toghyani et al., 2006
Cr-picolinate	0.50	1-40	225	Increase* in WG and decrease* in FCR	Samanta et al., 2008
Cr-picolinate	0.50	21-42	200	Increase* in WG and decrease* in FCR	Zha et al., 2009
Cr-nanocomposite	0.50	21-42	200	Increase* in ADG and decrease* in FCR	Zha et al., 2009
Cr-nicotinic	0.60	21-42	432	Increase* in FI and WG	Naghieh et al., 2010
Cr-chloride	2.50	1-42	150	Increase* in WG	Olufemi & Bosede 2011
Cr-methionine	0.80	21-42	288	Increase* in FI and WG	Noori et al., 2012
Cr-yeast	0.40	1-47	960	Decrease* in FCR and mortality	Oba et al., 2012
Cr-methionine	1.20	1-49	150	Not significant	Ghazi et al., 2012
Cr-chloride	2.00	1-35	80	Increase** in WG and FI	Norain et al., 2013

Cr-methionine	0.80	1-42	288	Decrease* in mortality	Ebrahimzadeh et al., 2013
Cr-picolinate	1.00	1-42	288	Decrease* in mortality	Pan et al., 2013
Cr-methionine	1.20	1-49	150	Not significant	Habibian et al., 2013
Cr-methionine	0.40	1-30	672	Increase* in WG and decrease* in FCR	Zhang & Kim 2014
Cr-picolinate	0.50	1-42	128	Increase* in WG	Tawfeek et al., 2014
Cr-methionine	0.70	1-41	400	Decrease* in FCR	Silva et al., 2014
Cr-propionate	3.20	1-42	700	Not Significant	Rajalekshmi et al., 2014
Cr-yeast	0.50	1-42	225	Increase* in WG	Mohammed et al., 2014
Cr-methionine	0.50	1-42	450	Increase** in FI, WG and FE	Jahani & Rasouli 2015
Cr-yeast	2.00	1-21	200	Increase* in FI, WG and FE	Rao et al., 2016
Cr-propionate	2.00	15-42	250	Increase* in ADG	Huang et al., 2016
Cr-histidinate	0.78	22-42	1200	Increase* in FI	Sahin et al., 2017

Abbreviations used: ED, effective doses; n, number of birds; FI, feed intake; WG, weight gain; FCR, feed conversion ratio; ADG, average daily gain; FE, feed efficiency; *, (P<0.05); **, (P<0.01)

Carcass characteristics

Heat stress negatively affects carcass characteristics since it increases the production of free radicals, lipid peroxidation, protein and vitamin denaturation, exudate production and muscle glycogen consumption, thereby compromising

the meat quality (SONG & KING, 2015). Zhang et al. (2012) observed that broilers reared under cyclic heat stress had increased activity of pyruvate kinase with higher lactic acid content, reducing meat pH which accelerates meat glycolysis, and can result in decreased meat quality. Altan et al. (2003) reported changes in antioxidant capacity in broilers exposed to acute heat stress (38°C) in association with changes in catalase and glutathione peroxidase concentrations.

Habibian et al. (2013) evaluated different levels (0.60 and 1.20 mg of chromium per kg) and sources (chromium-chloride and chromium-methionine) of dietary chromium in broilers exposed to cyclic heat stress. They observed that those consuming diets supplemented with 1.20 mg/kg of chromium as chromium-methionine had higher breast yields. The breast contains about 50% of the total chicken protein and is one of the most prized cuts. Zha et al. (2009) using three sources of chromium (chromium-chloride, chromium-picolinate, chromium-nanocomposite) at the level of 0.50 mg/kg of diet reported an increase in carcass yield irrespective of the chromium source in broilers reared under heat stress conditions (35°C). In addition, protein concentration in the breast of broiler chickens fed diets containing chromium-nanocomposite was higher than those of the control group.

There is evidence that chromium supplementation can reduce skeletal muscle weight loss in stressing situations and also enhance mRNA expression of myosin and actin in heat-stressed broilers (PAN et al., 2013; RAO et al., 2012). Additionally, chromium supplementation inhibits the production of tumor necrosis factor (TNF-alpha) (JAIN and KANNAN, 2001) which can inhibit

lipogenesis in adipocytes due to decreases in levels of lipoprotein lipase, GLUT-4 and acetyl-coenzyme A synthetase (SETHI & HOTAMISLIGIL, 1999). Consequently, there is a reduction in fat content and an increase in protein deposition in the carcass of broilers. Huang et al. (2016) observed a reduced abdominal fat content in broilers fed diets with chromium supplementation and exposed to a temperature of 33°C. Chromium supplementation can also decrease cholesterol levels in the meat (NAVIDSHAD et al., 2010; JAVED et al., 2010; LIN et al., 2014). Moeini et al. (2011) reported high protein concentration and low cholesterol content in the skeletal muscle of broilers reared at 33°C and supplemented with 1.20 mg/kg of chromium as chromium-methionine in the feed. Table 3 summarizes the effects of chromium supplementation on carcass characteristics in heat-stressed broilers.

Table 3. Effects of chromium supplementation on carcass characteristics in heat-stressed broilers

Chromium (Cr) source	ED (mg/kg)	Results	References
Cr-picolinate	1.20	Increase* in carcass yield and decrease* in abdominal fat	Sahin et al., 2002
Cr-picolinate	1.00	Increase* in carcass yield and decrease* in abdominal fat	Toghyani et al., 2006
Cr-yeast	0.40	Increase* in L of the meat	Oba et al., 2007
Cr-picolinate	0.50 - 1.00	Linear effect in EE and quadratic effect in CP in carcass	Samanta et al., 2008
Cr-nanocomposite	0.50	Increase* in carcass yield, breast yield, leg quarter yield, and decrease* in abdominal fat.	Zha et al., 2009

		Increase* in protein content of breast and thigh, and decrease* in cholesterol content of breast and thigh	
Cr-picolinate	0.50	Decrease* in abdominal fat and cholesterol content of thigh. Increase* in protein content of thigh	Zha et al., 2009
Cr-yeast	1.20	Decrease* in lipid content and decrease** in lipid oxidation	Toghyani et al., 2010
Cr-chloride	0.25	Decrease* in cooking weight loss with no changes on meat yield and quality	Olufemi & Bosede 2011
Cr-nicotinic	1.50	Increase* in carcass yield and decrease** in abdominal fat	Toghyani et al., 2012
Cr-methionine	0.80	Increase* in carcass yield and decrease* in abdominal fat	Ebrahimzadeh et al., 2013
Cr-chloride	2.00	Increase** in carcass yield	Norain et al., 2013
Cr-propionate	1.00 - 3.20	Increase* in breast yield	Rajalekshmi et al., 2014
Cr-methionine	0.40	Increase* in L value of the meat	Zhang & Kim 2014
Cr-propionate	2.00	Decrease* in b* value of the meat, and cooking loss of breast	Huang et al., 2016

Abbreviations used: ED, effective doses; L, lightness; EE, ether extract; CP, crude protein; b*, yellow intensity; *, (P<0.05); **, (P<0.01)

Despite the numerous advantages of chromium supplementation in heat-stressed broiler chickens, some authors have reported no significant effects (ANANDHI et al., 2006; VAZ et al., 2009; GHANBARI et al., 2012). According to Huang et al. (2016) the discrepancy among studies may be explained by differences in type of sources, chromium concentration, different basal diets and experimental treatments.

One factor that must be taken into account when using chromium as a supplement in the diets of broiler chickens is the concentration of this metal in the meat of the animals. The determination of metals in foods is of utmost importance for the safety of consumers as it provides toxicological information necessary for the safety of the products. Ribeiro et al. (2011) conducted an experiment to detect the presence of chromium in chicken meat samples by spectrophotometry and did not detect traces of chromium (III), chromium (IV) and chromium (VI). Islam et al. (2016) evaluated the concentration of chromium in chicken meat samples from different farms in Bangladesh and found a concentration of $\mu\text{g Cr/g}$ of meat. Debski et al. (2004) found concentrations of 40 to 52 $\mu\text{g Cr/kg}$ of moist tissue in the meat of animals fed diets supplemented with 0.2 mg Cr/kg. According to EFSA (European Food Safety Authority) – Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2014), these values are within recommended daily intake range for adult men and women of 30-100 $\mu\text{g/day}$. However they are in excess for infants less than one year of age (20-40 $\mu\text{g/day}$). In this sense, it is necessary to develop studies that evaluate the concentration of Cr and other heavy metals in foods of animal origin destined for human consumption, since toxicity presents extreme health risks.

Conclusions

When exposed to heat stress conditions, broilers maintain homeostasis and thermoregulation through physiological and metabolic adjustments that can have a negative effect on growth performance. Feed intake is reduced and consequently growth rates decline. Changes in nutrient utilization and partitioning, as well as metabolic and immune function have also been reported.

According to this review, there is a positive relationship between dietary chromium supplementation and growth performance, physiological and immune functions when broilers are exposed to heat stress conditions. Chromium supplementation increased growth rate, immune function and antioxidant capacity while decreasing lipid peroxidation, cholesterol and fat content in heat-stressed broilers. Therefore, dietary supplementation with chromium may be recommended as a nutritional strategy to modulate the negative effects of heat stress in broilers.

Acknowledgements

The authors thank the Universidade Federal de Viçosa (UFV), CAPES, Cnpq, FAPEMIG and Zinpro Corporation.

References

ABREU, V.M.N.; ABREU, P.G. Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, supl. especial, p. 1-14, 2011.

ALTAN, Ö.; PABUÇCUOĞLU, A.; ALTAN, A.; KONYALIOĞLU, S.; BAYRAKTAR, H. Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. **British Poultry Science**, v. 44, n. 4, p. 545-550, 2003.

ANANDHI, M.; MATHIVANAN, R.; VISWANATHAN, K.; MOHAN, B. Dietary inclusion of organic chromium on production and carcass characteristics of broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 9, p. 880-884, 2006.

ANDERSON, R.A.; BRYDEN, N.A.; POLANSKY, M.M. Dietary chromium intake. Freely chosen diets, institutional diets, and individual foods. **Biological Trace Element Research**, v. 32, n. 1, p. 117-121, 1992.

AKDEMIR, F.; SAHIN, N.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; SAHIN, K.; HAYIRLI, A. Chromium-histidinate ameliorates productivity in heat-stressed Japanese quails through reducing oxidative stress and inhibiting heat-shock protein expression. **British Poultry Science**, v. 56, n. 2, p. 247-254, 2015.

BAÊTA, F.C.; SOUZA CF. **Ambiência em edificações rurais**: conforto animal. 3º ed. Viçosa: UFV, 269 p. 2010.

BAHRAMI, A.; MOEINI, M.M.; GHAZI, S.H.; TARGHIBI, M.R. The effect of different levels of organic and inorganic chromium supplementation on immune function of broiler chicken under heat-stress conditions. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 2, p. 209-215, 2012.

BHAGAT, J.; AHMED, K.A.; TYAGI, P.; SAXENA, M.; SAXENA, V.K. Effects of supplemental chromium on interferon-gamma (IFN-gamma) mRNA expression in response to Newcastle disease vaccine in broiler chicken. **Research in Veterinary Science**, v. 85, n. 1, p. 46-51, 2008.

BORGES, S.A.; MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F. Heat stress physiology and electrolytes for broilers. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 975-334 981, 2003.

BORGES, S.A.; SILVA, A.V.F.; MAIORKA, A. Acid-based balance in broilers. **World's Poultry Science Journal**, v. 63, n. 1, p. 73-81, 2007.

BORGUET, F.; CORNELIS, R.; LAMEIRE, N. Speciation of chromium in plasma and liver tissue of endstage renal failure patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Biological Trace Element Research**, v. 26-27, p. 449-460, 1990.

BROOKS, M.A.; GRIMES, J.L.; LLOYD, K.E.; KRAFKA, K.; LAMPTEY, A.; SPEARS, J.W. Chromium propionate in broilers: effect on insulin sensitivity. **Poultry Science**, v. 95, n. 5, p. 1096-1104, 2016.

BROSSI, C.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; AMAZONAS, E.A.; MENTEN, J.F.M. Estresse térmico durante o pré-abate em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1284-1293, 2009.

BRUNO, L.D.G.; MAIORKA, A.; MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GIVISIEZ, P.E.N. Water intake behaviour of broiler chickens exposed to heat stress and drinking from bell or nipple drinkers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 13, n. 2, p. 147-152, 2011.

BURGOS, C.; LATORRE, P.; LÓPES-BUESA, P. The effects of chromium picolinate and simvastatin on pig serum cholesterol contents in swine muscular and adipose tissues. **Livestock Science**, v. 185, p. 74-78, 2016.

CALEFI, A.S., QUINTEIRO-FILHO, W.M., FERREIRA, A.G.P., AND PALERMO-NETO, J. Neuroimmunomodulation and heat stress in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 3, p. 493-504, 2017.

CAO, J.; LI, K.; LU, X.; ZHAO, Y. Effects of florfenicol and chromium (III) on humoral immune response in chicks. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 3, p. 366-370, 2004.

CHEN, N.S.C.; TSAI, A.; DUER, I.A. Effects of chelating agents on chromium absorption in rats. **Journal of Nutrition**, v. 103, n. 8, p. 1182-1186, 1973.

CUPO, M.A.; DONALDSON, W.E. Chromium and vanadium effects on glucose metabolism and lipid synthesis in the chick. **Poultry Science**, v. 66, n. 1, p. 120-126, 1987.

DAGHIR, N.J. Poultry production in hot climates. **Journal Applied of Poultry Research**, v. 18, p. 131-134, 2009.

DALÓLIO, F.S.; ALBINO, L.F.T.; LIMA, H.J.D.; SILVA, J.N.; MOREIRA, J. Heat stress and vitamin E in diets for broilers as a mitigating measure. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v. 37, n. 4, p. 419-427, 2015.

DALÓLIO, F.S.; MOREIRA, J.; COELHO, D.J.R.; SOUZA, C.F. Caracterização bioclimática de um galpão experimental de criação de frangos de corte na região de Diamantina-MG. **Engenharia na Agricultura**, v. 24, n. 1, p. 22-31, 2016a.

DALÓLIO, F.S.; MOREIRA, J.; VAZ, D.P.; NUNES, R.V.; DESSIMONI, G.V. Digestible lysine for broilers from different commercial strains in the final phase. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 4, p. 411-416, 2016b.

DAVIS, C.M.; SUMRALL, K.H.; VINCENT, J.B. The biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). **Biochemistry**, v. 35, n. 39, p. 12963-12969, 1996.

DAVIS, C.M.; VINCENT, J.B. Isolation and characterization of a biologically active form of chromium oligopeptide from bovine liver. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 339, n. 2, p. 335-343, 1997a.

DAVIS, C.M.; VINCENT, J.B. Chromium oligopeptide activates insulin receptor tyrosine kinase activity. **Biochemistry**, v. 36, n. 15, p. 4382-4385, 1997b.

DEBSKI, B.; ZALEWSKI, W.; GRALAK, M.A.; KOSLA, T. Chromium-yeast supplementation of chicken broilers in an industrial farming system. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 18, n. 1, p. 47-51, 2004.

EBRAHIMZADEH, S.K.; FARHOOMAND, P.; NOORI, K. Immune response of broiler chickens fed diets supplemented with different level of chromium methionine under heat stress conditions. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 25, n. 2, p. 256-260, 2012.

EBRAHIMZADEH, S.K.; FARHOOMAND, P.; NOORI, K. Effects of chromium methionine supplementation on performance, carcass traits, and the Ca and P metabolism of broiler chickens under heat-stress conditions. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 382-387, 2013.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY: EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies) (2014) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Chromium. **EFSA J** 12:3845, 25 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3845. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EVANS, V.G.; BOWMAN, T.D. Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 46, n. 4, p. 243-250, 1992.

EZE, D.C.; OKWOR, E.C.; ANIKE, W.U.; KAZEEM, H.M.; MAJIYAGBE, K.A. Effect of chromium propionate on the humoral immune response and performance of broilers vaccinated against Newcastle disease in the tropics. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 24, n. 6, p. 1709-1715, 2014.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; GONZALES E. **Fisiologia aviária aplicada a frango de corte**. Universidade Estadual de São Paulo. Jaboticabal. Brazil, 2002.

GAMBA, J.P.; RODRIGUES, M.M.; GARCIA NETO, M.; PERRI, S.H.V.; FARIA JÚNIOR, M.J.A.; PINTO, M.P. The strategic application of electrolyte balance to minimize heat stress in broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, n. 2, p. 237-246, 2012.

GARCIA, R.G.; FREITAS, L.W.; SCHWINGEL, A.W.; FARIAS, R.M.; CALDARA, F.R.; GABRIEL, A.M.A.; GRACIANO, J.D.; KOMIYAMA, C.M.; ALMEIDA PAZ, I.C.L. Incidence and physical properties of PSE chicken meat in a commercial processing plant. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 4, p. 233-237, 2010.

GHANBARI, S.; EBRAHIMNEZHAD, Y.; ESHRATKHAH, B.; NAZERADI, K. Effect of dietary chromium supplementation on performance and carcass traits of broiler chicks. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 11, n. 5, p. 467-472, 2012.

GHAZI, S.H.; HABIBIAN, M.; MOEINI, M.M. Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 3, p. 309-317, 2012.

GILOH, M.; SHINDER, D.; YAHAV, S. Skin surface temperature of broiler chickens is correlated to body core temperature and is indicative of their thermoregulatory status. **Poultry Science**, v. 91, n. 1, p. 175-188, 2012.

GURSOY, U. Chromium in broiler diets. **Feed International**, v. 21, n. 3, p. 24-26, 2000.

HABIBIAN, M.; GHAZI, S.; MOEINI, M. Lack of effect of dietary chromium supplementation on growth performance and serum insulin, glucose, and lipoprotein levels in broilers reared under heat stress condition. **Biological Trace Element Research**, v. 153, n. 1-3, p. 205-211, 2013.

HASHIZAWA, Y.; KUBOTA, M.; KADOWAKI, M.; FUJIMURA, S. Effect of dietary vitamin E on broiler meat qualities, color, water-holding capacity and shear force value, under heat stress conditions. **Animal Science Journal**, v. 84, n. 11, p. 732-414 736, 2013.

HATHWAR, S.C.; RAI, A.K.; MODI, V.K.; NARAYAN, B. Characteristics and consumer acceptance of healthier and meat product formulations – a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 6, p. 653-664, 2012.

HAZELWOOD, R.L. Carbohydrate Metabolism. In: Sturkie P.D. (eds) **Avian Physiology**. Springer, New York, NY, 1986.

HUANG, Y.; YANG, J.; XIAO, F.; LLOYD, K.; LIN, X. Effects of supplemental chromium source and concentration on growth performance, carcass traits, and meat quality of broilers under heat stress conditions. **Biological Trace Element Research**, v. 170, n. 1, p. 216-233, 2016.

HOSSAIN, S.M.; BARRETO, S.L.T.; SILVA, C.G. Growth performance and carcass composition of broiler fed supplemental chromium from chromium yeast. **Animal Feed Science and Technology**, v. 71, n. 3-4, p. 217-228, 1998.

HUNT, C.D.; STOECKER, B.J. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for boron, chromium and fluoride dietary recommendations. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 9, p. 2441S–2451S, 1996.

ISLAM, M.M.; KABIR, S.M.L.; SARKER, Y.A.; SIKDER, M.M.H.; ISLAM, S.K.S.; AKTHER, A.H.M.T.; HOSSAIN, M.M. Risk assessment of chromium levels in broiler feeds and meats from selected farms of Bangladesh. **Bangladesh Journal of Veterinary Medicine**, v. 14, n. 2, p. 131-134, 2016.

JACKSON, A.R.; POWELL, S.; JOHNSTON, S.; SHELTON, J.L.; BIDNER, T.D.; VALDEZ, F.R.; SOUTHERN, L.L. The effect of chromium propionate on growth performance and carcass traits in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, p. 476-481, 2008.

JAHANIAN, R.; RASOULI, E. Dietary chromium methionine supplementation could alleviate immunosuppressive effects of heat stress in broiler chicks. **Journal Animal Science**, v. 93, n. 7, p. 3355-3363, 2015.

JAIN, S.K.; KANNAN, K. Chromium chloride inhibits oxidative stress and TNF- α secretion caused by exposure to high glucose in cultured U937

monocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 289, n. 3, p. 687-691, 2001.

JAVED, M.T.; ELLAHI, M.; ABBAS, N.; YASMIN, R.; MAZHAR, M. Effects of dietary chromium chloride, nicotinic acid and cooper sulphate on meat of broilers. **British Poultry Science**, v. 51, n. 3, p. 354-360, 2010.

KANDROR, K.V. Insulin regulation of protein traffic in rat adipocyte cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 36, p. 25210-25217, 1999.

KHAN, R.U.; NAZ, S.; NIKOUSEFAT, K.; SELVAGGI, M.; LAUDADIO, V.; TUFARELLI, V. Effect of ascorbic acid in heat-stressed poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 3, p. 477-490, 2012.

KHAN, R.U.; NAZ, S.; DHAMA, K. Chromium: pharmacological applications in heat-stress in poultry. **International Journal of Pharmacology**, v. 10, n. 4, p. 213-217, 2014.

KRÓLICZEWSKA, B.; ZAWADSKI, W.; DOBRZANSKI, Z.; KACZMAREK-OLIWA, A. Changes in selected serum parameters of broiler chicken fed supplemental chromium. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, n. 11-12, p. 393-400, 2004.

KURZ, A. Physiology of thermoregulation. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 22, n. 4, p. 627-644, 2008.

LEE, D.N.; WU, F.Y.; CHENG, Y.H.; LIN, R.S.; WU, P.C. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on growth performance and immune

responses of broilers. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 2, p. 227-233, 2003.

LIN, Y.C.; HUANG, J.T.; LI, M.Z.; CHENG, C.Y.; LIEN, T.F. Effects of supplemental nanoparticle trivalent chromium on the nutrient utilization, growth performance and serum traits of broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 59-65, 2014.

LUKASKI, H.C. Chromium as a supplement. **Annual Review of Nutrition**, v. 19, p. 279-302, 1999.

MAHMOUD, K.Z.; EDENS, F.W.; EISEN, E.J.; HAVENSTEIN, G.B. Ascorbic acid decreases heat shock protein 70 and plasma corticosterone response in broilers (*Gallus gallus domesticus*) subjected to cyclic heat stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology**, v. 37, n. 1, p. 35-42, 2004.

MIRFENDERESKI, E.; JAHANIAN, R. Effects of dietary organic chromium and vitamin C supplementation on performance, immune responses, blood metabolites, and stress status of laying hens subjected to high stocking density. **Poultry Science**, v. 94, n. 2, p. 281-288, 2015.

MOEINI, M.M.; BAHRAMI, A.; GHAZI, S.; TARGHIBI, M.R. The effect of different levels of organic and inorganic chromium supplementation on production performance, carcass traits and some blood parameters of broiler chicken under heat stress condition. **Biological Trace Element Research**, v. 144, n. 1-3, p. 715-724, 2011.

MOHAMMED, H.H.; EL-SAYED, B.M.; ABD EL-RAZIK, W.M.; ALI, M.A.; ABD EL-AZIZ, R.M. The influence of chromium sources on growth performance, economic efficiency, some maintenance behaviour, blood metabolites and carcass traits in broiler chickens. **Global Veterinaria**, v. 12, n. 5, p. 599-605, 2014

NAGHIEH, A.; TOGHYANI, M.; GHEISARI, A.A.; SAEED, S.E.; MIRANZAEDH, H. Effect of different sources of supplemental chromium on performance and immune responses of broiler chicks. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 2, p. 354-358, 2010.

NAVIDSHAD, B.; PIRSARAEI, Z.A.; CHASHNIDEL, Y. Effects of dietary chromium polynicotinate supplementation on performance, fat deposition and plasma lipids of broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, v. 9, n. 1, p. 61-64, 2010.

NOORI, K.; FARHOOMAND, P.; EBRAHIMZADEH, S.K. Effect of chromium methionine supplementation on performance and serum metabolites in broiler chickens thermoneutral and under heat-stress conditions. **Iran Journal of Applied Animal Science**, v. 2, n. 1, p. 79-82 485, 2012.

NORAIN, T.M.; ISMAIL, I.B.; ABDOUN, K.A.; AL-HAIDARY, A.A. Dietary inclusion of chromium to improve growth performance and immune-competence of broilers under heat stress. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 4, p. 562-566, 2013.

OBA, A.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; LEONEL, F.R.; PELICANO, E.R.L.; ZEOULA, N.M.B.; BOLLELI, I.C. Qualidade da carne de frangos de corte

submetidos a dietas com cromo, criados em diferentes temperaturas ambientais. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v. 29, n. 2, p. 143-149, 2007.

OBA, A.; LOPES, P.C.F.; BOIAGO, M.M.; SILVA, A.M.S.; MONTASSIER, H.J.; SOUZA, P.A. Características produtivas e imunológicas de frangos de corte submetidos a dietas suplementadas com cromo, criados sob diferentes condições de ambiente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 5, p. 1186-1192, 2012.

OLIVO, R.; SOARES, A.L.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. **Journal of Food Biochemistry**, v. 25, n. 4, p. 271-283, 2001.

OGLE, C.K.; VALENTE, J.F.; GUO, X.; LI, B.G.; OGLE, J.D.; ALEXANDER, J.W. Thermal injury induces the development of inflammatory macrophages from nonadherent bone marrow cells. **Inflammation**, v. 21, n. 6, p. 569-582, 1997.

OLUFEMI, A.A.; BOSEDE, M.A. Effect of inorganic chromium supplementation on performance, meat quality, residual chromium and mineral composition of heat-stress broiler birds. **International Journal of AgriScience**, v. 1, n. 7, p. 373-380, 2011.

PAN, Y.Z.; WU, S.G.; DAI, H.C.; ZHANG, H.J.; YUE, H.Y.; QI, G.H. Solexa sequencing of microRNAs on chromium metabolism in broiler chicks. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 6, n. 3, p. 137-153, 2013.

PECHOVA, A.; PAVLATA, L. Chromium as an essential nutrient: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 52, n. 1, p. 1-18, 2007.

PERAI, A.H.; KERMANSHAHI, H.; MOGHADDAM, H.N. Effects of supplemental vitamin C and chromium on metabolic and hormonal responses, antioxidant status, and tonic immobility reactions of transported broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 157, n. 3, p. 224-233, 2014.

PUVADOLPIROD, S.; THAXTON, J.P. Model of physiological stress in chickens 4. Digestion and metabolism. **Poultry Science**, v. 79, n. 3, p. 383-390, 2000.

QUINTEIRO-FILHO, W.M.; RIBEIRO, A.; DE PAULA, V.F.; PINHEIRO, M.L.; SAKAI, M.; SÁ, L.R.; FERREIRA, A.J.; PALERMO-NETO, J. Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chicken. **Poultry Science**, v. 89, n. 9, p. 1905-1914, 2014.

RAJALEKSHMI, M.; SUGUMAR, C.; CHIRAKKAL, H.; RAO, S.V. R. Influence of chromium propionate on the carcass characteristics and immune response of commercial broiler birds under normal rearing conditions. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 574-580, 2014.

RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.; PANDA, A.K.; POONAM, N.S.; MURTHY, O.K.; SUNDER, G.S. Effect of dietary supplementation of organic chromium on performance, carcass traits, oxidative parameters and immune responses in commercial broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 147, n. 1-3, p. 135-141, 2012.

RAO, S.V.R.; PRAKASH, B.; RAJU, M.V.L.N.; PANDA, A.K.; KUMARI, R.K. Effect of supplementing organic forms of zinc, selenium and chromium on performance, anti-oxidant and immune responses in broiler chicken reared in

tropical summer. **Biological Trace Element Research**, v. 172, n. 2, p. 511-520, 2016.

RENAUDEAU, D.; COLLIN, A.; YAHAV, S.; DE BASILIO, V.; GOURDINE, J.L.; COLLIER, R.J. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. **Animal**, v. 6, n. 5, p. 707-728, 2012.

RHOADS, R.P.; BAUMGARD, L.H.; SUAGEE, J.K.; SANDERS, S.R. Nutrition interventions to alleviate the negative consequences of heat stress. **Advances Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 267-276, 2013.

RIMOLD, S.; LASAGNA, E.; SARTI, F.M.; MARELLI, S.P.; COZZI, M.C.; BERNARDINI, G.; TEROVA, G. Expression profile of six stress-related genes and productive performances of fast and slow growing broiler strains reared under heat stress conditions. **Meta Gene**, v. 6, p. 17-25, 2015.

RIBEIRO, A.M.L.; VOGT, L.K.; CANAL, C.W.; LAGANÁ, C.; STRECK, A.F. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos e sua ação sobre a imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 636-644, 2008.

ROLL, V.F.B.; LOPES, L.L.; ROSSI, P.; ANCIUTI, M.A.; RUTZ, F.; XAVIER, E.G.; SILVA, S.S. Hematology of broilers fed diets containing aflatoxins and mycotoxin adsorbent. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p. 93-101, 2010.

ROSALES, A.G.; VILLEGAS, P.; KUKERT, P.D.; FLECHER, O.J.; MOHAMED, M.A.; BROWN, J. Isolation, identification and pathogenicity of two field strains of infectious bursal virus. **Avian Diseases**, v. 33, n. 1, p. 35-41, 1989.

SAHIN, K.; KÜÇÜK, O.; SAHIN, N. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on performance and plasma concentrations of insulin and corticosterone in laying hens under low ambient temperature. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, n. 5-6, p. 142-147, 2001.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; ONDERIC, M.; GURSU, F.; CIKIM, G. Optimal dietary concentration of chromium for alleviating the effect of heat stress on growth, carcass qualities, and some serum metabolites of broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 89, n. 1, p. 53-64, 2002.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; KÜÇÜK, O. Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high environmental temperature (32°C). **Nutrition Research**, v. 23, n. 1-3, p. 225-238, 2003.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; KÜÇÜK, O.; HAYRLI, A.; PRASAD, A.S. Role of dietary zinc in heat-stressed poultry: A review. **Poultry Science**, v. 88, n. 10, p. 2176-2183, 2009.

SAHIN, N.; AKDEMIR, F.; TUZCU, M.; HAYRLI, A.; SMITH, M.O.; SAHIN, K. Effects of supplemental chromium sources and levels on performance, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in heat-stressed quails. **Animal Feed Science and Technology**, v. 59, n. 3-4, p. 143-149, 2010.

SAHIN, N.; HAYRLI, A.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; AKDEMIR, F.; KOMOROWSKI, J.R.; SAHIN, K. Effects of supplemental chromium form on performance and oxidative stress in broilers exposed to heat stress. **Poultry Science**, v. 96, n. 12, p. 4317-4324, 2017.

SAMANTA, S.; HALDAR, S.; BAHADUR, V.; GHOSH, T.K. Chromium picolinate can ameliorate the negative effects of heat stress and enhance performance, carcass and meat traits in broiler chickens by reducing the circulatory cortisol level. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 88, n. 5, p. 787-796, 2008.

SANDS, J.S.; SMITH, M.O. Broilers in heat stress conditions: Effects of dietary manganese proteinate or chromium picolinate supplementation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 8, n. 3, p. 280-287, 1999.

SETHI, J.K.; HOTAMISLIGIL, G.S. The role of TNF α in adipocyte metabolism. **Cell Developmental Biology**, v. 10, n. 1, p. 19-29, 1999.

SIEGEL, H.S. Stress, strains and resistance. **British Poultry Science**, v. 36, n. 1, p. 3-22, 1995.

SILVA, S.R.G.; ABREU, M.L.T.; LOPES, J.B.; LEAL, D.I.B.; ALMENDRA, S.N.O.; SILVA, S.M.M.S.; COSTA, S.E.M. Desempenho e resposta imune de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com cromo na forma orgânica. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 21, n. 3, p. 199-203, 2014.

SILVA, G.C.; NASCIMENTO, M.R.B.M.; PENHA-SILVA, N.; FERNANDES, E.A.; VILELA, D.R.; SOUTO, M.M. Suplementação com zinco e selênio em frangos de corte submetidos a estresse cíclico de calor. **Revista Ceres**, v. 62, n. 4, p. 372-378, 2015.

SIRIRAT, N.; LU, J.J.; HUNG, A.T.Y.; CHEN, S.Y.; LIEN, T.F. Effects different levels of nanoparticles chromium picolinate supplementation on growth

performance, mineral retention, and immune responses in broiler chickens.

Journal of Agricultural Sciences, v. 4, n. 12, p. 48-58, 2012.

SOUZA, L.M.G.; MURAKAMI, A.E.; FERNANDES, J.I.M.; GUERRA, F.L.H.; MARTINS, E.M. Chromium influence on performance, meat quality and concentration of lipids in broiler blood plasma. **Brazilian Journal Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 808-814, 2010.

SONG, D.J.; KING, A.J. Effects of heat stress on broiler meat quality. **World's Poultry Science Journal**, v. 71, n. 4, p. 701-709, 2015.

TAWFEEK, S.S.; HASSANIN, K.M.A.; YOUSSEF, I.M.I. The effect of dietary supplementation of some antioxidants on performance, oxidative stress, and blood parameters in broilers under natural summer conditions. **Journal World's Poultry Research**, v. 4, n. 1, p. 10-19, 2014.

TOGHYANI, M.; SHIVAZAD, M.; GHEISARI, A.A.; ZARKESH, S.H. Performance, carcass traits and hematological parameters of heat-stressed broiler chicks in response to dietary levels of chromium picolinate. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 1, p. 65-69, 2006.

TOGHYANI, M.; ZARKESH, S.H.; SHIVAZAD, M.; GHEISARI, A.A. Immune responses of broiler chicks fed chromium picolinate in heat stress condition. **The Journal of Poultry Science**, v. 44, n. 3, p. 330-334, 2007.

TOGHYANI, M.; GHEISARI, A.A.; KHODAMI, A.; TOGHYANI, M.; MOHAMMADREZAEI, M.; BAHADORAN, R. Effect of dietary chromium yeast on thigh meat quality of broiler chicks in heat stress condition. **International Journal of Biology Life Sciences**, v. 6, n. 12, p. 196-199, 2010.

TOGHYANI, M.; TOGHYANI, M.; SHIVAZAD, M.; GHEISARI, A.A.; BAHADORAN, R. Chromium supplementation can alleviate the negative effects of heat stress on growth performance, carcass traits, and meat lipid oxidation of broiler chicks without any adverse impacts on blood constituents. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 2, p. 171-180, 2012.

VAZ, R.G.M.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L.; ALBINO, L.F.T.; OLIVEIRA, W.P.; SILVA, B.A.N. Levels of dietary chromium in rations for male broilers kept under heat stress from one to 42 days of age. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 2, p. 484-490, 2009.

VINCENT, J.B. Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. **Accounts of Chemical Research**, v. 33, n. 7, p. 503-510, 2000a.

VINCENT, J.B. The biochemistry of chromium. **Journal Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 715-718, 2000b.

VINCENT, J.B. Chromium: celebrating 50 years as an essential element? **Dalton Transactions**, v. 39, v. 16, p. 3787-3794, 2010.

WANG, M.Y.; TSAI, M.Y.; WANG, C. Identification of chicken liver glucose transporter. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 310, n. 1, p. 172-179, 1994.

WHITE, M. K.; RALL, T.B.; WEBER, J. Differential regulation of glucose transporter isoforms by the src oncogene in chicken embryo fibroblasts. **Molecular and Cellular Biology**, v. 11, n. 9, p. 4448-4454, 1991.

XIAO, F.; AO, D.; ZHOU, B.; SPEARS, J.W.; LIN, X.; HUANG, Y. Effects of supplemental chromium propionate on serum lipids, carcass traits, and meat quality of heat-stressed broilers. **Biological Trace Element Research**, v. 176, n. 2, p. 401-406, 2016.

YAMAMOTO, A.; WADA, O.; ONO, T. Isolation of biologically active low-molecular-mass chromium compound from rabbit liver. **European Journal of Biochemistry**, v. 165, n. 3, p. 627-631, 1987.

ZEFERINO, C.P.; KOMIYAMA, C.M.; PELÍCIA, V.C.; FASCINA, V.B.; AOYAGI, M.M.; COUTINHO, L.L.; SARTORI, J.R.; MOURA, A.S.A.M.T. Carcass and meat quality traits of chickens fed diets concurrently supplemented with vitamins C and E under constant heat stress. **Animal**, v. 10, n. 1, p. 163-171, 2016.

ZHA, L.Y.; ZENG, J.W.; CHU, X.W.; MAO, L.M.; LUO, H.J. Efficacy of trivalent chromium on growth performance, carcass characteristics and tissue chromium in heat-stressed broilers chicks. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 10, p. 1782-1786, 2009.

ZHANG, Z.Y.; JIA, G.Q.; ZUO, J.J.; ZHANG, Y.; LEI, J.; REN, L.; FENG, D.Y. Effects of constant and cyclic heat stress on muscle metabolism and meat quality of broiler breast fillet and thigh meat. **Poultry Science**, v. 91, n. 11, p. 2931-2937, 2012.

ZHANG, S.; KIM, I.H. Effects of Cr-methionine supplementation on growth performance, relative organ weight, immune hormones, and meat quality of

broiler chicks under heat stress. **Indian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 5, p. 511-515, 2014.

ZHAO, J.P.; LIN, H.; JIAO, H.C.; SONG, Z.G. Corticosterone suppresses insulin-and NO-stimulated muscle glucose uptake in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 149, n. 3, p. 448-454, 2009.

3. ARTIGO 2: Desempenho e características de carcaça de frangos de corte criados em estresse cíclico por calor e alimentados com dietas suplementadas com cromo metionina

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de cromo metionina em dietas para frangos de corte criados em estresse cíclico de calor (33°C por 12h) no período de 22 a 43 dias de idade, nos parâmetros de desempenho produtivo, de rendimento de carcaça e de cortes e de qualidade da carne. Foram utilizados 336 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 com 21 dias de idade, com peso médio de 858,20 g, distribuídos em um delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados com 4 blocos (cada câmara climática), 6 tratamentos (0; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,20 mg/kg de Cr na forma de Cr-metionina), 8 repetições e 7 aves por cada unidade experimental. Foram realizadas análises de regressão para as características de desempenho e de carcaça. Para as características de desempenho houve ajuste de regressão ($P < 0,05$) para o peso corporal (PC) aos 43 dias de idade, o consumo de ração médio (CRM) no período de 22-43 dias de idade e para a conversão alimentar (CA) nos períodos de 22-28 e de 22-43 dias de idade. Para as características de carcaça houve ajuste ($P < 0,05$) para o rendimento de peito e peso de gordura abdominal aos 43 dias. Para maior PC aos 35 dias o nível de cromo-metionina recomendado é de 0,64 mg/kg. O CRM comportou-se de forma linear. Para melhor CA dos frangos de corte nos períodos de 22-28 e de 22-43 recomenda-se, respectivamente a suplementação de 1,11 e 0,53 mg/kg de Cr-metionina. Para o aumento do rendimento de peito e redução da gordura

abdominal dos frangos de corte abatidos aos 43 de idade recomenda-se, respectivamente a suplementação de 0,41 e 0,57 mg/kg de Cr na forma de Cr-metionina. Não houve efeito ($P>0,05$) da suplementação de cromo-metionina no rendimento de carcaça, de asas, de pernas, de qualidade da carne e no peso absoluto e relativo de vísceras aos 43 dias. Assim, concluiu-se que a suplementação dietética de 0,57 mg/kg de Cr metionina para frangos de corte melhora o desempenho e as características de carcaça de frangos aos 43 dias de idade.

Palavras-chave: cromo, conversão alimentar, rendimento de carcaça e cortes, qualidade da carne.

Performance and carcass characteristics of broiler chickens reared in cyclic heat stress and fed diets supplemented with chromium methionine

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of chromium methionine supplementation in diets for broiler chickens reared in cyclic heat stress (33°C for 12h) in the period from 22 to 43 days of age, in the parameters of productive performance, carcass yield and cuts and meat quality. A total of 336 male broilers from the Cobb 500 at 21 days of age, with an average weight of 858.20 g, were distributed in a completely randomized block design with four blocks (each climatic chamber), 6 treatments (0, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 and 1,20 mg/kg Cr as Cr-methionine), 8 replicates and 7 birds per experimental unit. Regression analyzes were performed for performance and carcass characteristics. For the

performance characteristics, there was a regression adjustment ($P < 0.05$) for body weight (PC) at 43 days of age, mean feed intake (CRM) in the period of 22-43 days of age and for feed conversion ratio (FCR) in the periods 22-28 and 22-43 days of age. For the carcass characteristics, there was adjustment ($P < 0.05$) for chest yield and abdominal fat weight at 43 days. For higher body weight at 35 days the recommended chromium-methionine level is 0.64 mg/kg. CRM behaved in a linear fashion. For the decrease feed conversion ratio of broilers in the periods 22-28 and 22-43 respectively, supplementation of 1,11 and 0,53 mg/kg of Cr-methionine is recommended respectively. In order to increase breast yield and reduce abdominal fat of broilers slaughtered at age 43, supplementation of 0.41 and 0.57 mg/kg of Cr in the form of Cr-methionine is recommended respectively. There was no effect ($P > 0.05$) of chromium-methionine supplementation on carcass, wing, leg, meat quality and absolute and relative viscera weight at 43 days. Thus, it was concluded that dietary supplementation of 0.57 mg/kg of Cr methionine for broilers improves performance and carcass characteristics of chickens at 43 days of age.

Key words: chromium, feed conversion ratio, carcass yield and cuts, meat quality.

INTRODUÇÃO

O frango de corte é muito eficiente para converter alimentos em proteína animal, no entanto, o mesmo se depara muitas vezes com condições adversas de estresse por temperaturas elevadas associadas com níveis inadequados de

umidade relativa, ambiente típico de países tropicais. Durante a exposição ao estresse por calor ocorre redução na concentração sérica de minerais e de vitaminas, bem como aumento no consumo de água e na excreção de fezes líquidas (AKBARIAN et al., 2016). De acordo com Calefi et al. (2017), a neuroimunomodulação através do fornecimento de nutrientes benéficos para atenuação do estresse por calor é um mecanismo de grande valia para a melhora do desempenho dos animais e redução do prejuízo financeiro provocado pela exposição das aves a altas temperaturas ambientais. Dentre as alternativas de suplementação mineral disponíveis, o cromo pode ser de extrema importância para o progresso produtivo de frangos de corte criados em condições de calor (SAMANTA et al., 2008; SAHIN et al., 2017).

O cromo é um micromineral traço que não é adicionado comumente aos premixes minerais para frangos de corte disponíveis no mercado. No entanto, estudos com suplementação de cromo em dietas para frangos de corte indicam possibilidade de melhora no desempenho produtivo e no metabolismo de nutrientes quando os frangos encontram-se expostos ao estresse por calor (SAHIN et al., 2002; ZHA et al., 2009; GHAZI et al., 2012; TOGHYANI et al., 2012; ZHANG e KIM, 2014; JAHANIAN e RASOULI, 2015; RAO et al., 2016). Acredita-se que isto ocorre devido ao cromo influenciar positivamente na sensibilidade da célula no reconhecimento do hormônio insulina (VINCENT, 2000) que, por sua vez, estimula cascatas de reações metabólicas com efeitos positivos no anabolismo celular, com estímulo no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (MOHAMMED et al., 2014). Essa maior otimização do metabolismo dos frangos pode proporcionar efeitos diretos na melhora da qualidade da carne, com aumento de rendimento de carne magra e redução de

gordura abdominal, reduzindo as chances de peroxidação lipídica (TOGHYANI et al. 2010; OLUFEMI e BOSEDE, 2011; RAJALEKSHMI et al., 2014; HUANG et al., 2016); itens muito valorizados atualmente pelos consumidores cada vez mais informados e ávidos por carne de boa qualidade.

Neste sentido, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de cromo metionina em dietas para frangos de corte, criados em condições de estresse cíclico de calor, no período de 22 a 43 dias, sob os parâmetros de desempenho produtivo, de rendimento de carcaça e de cortes e de qualidade da carne.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados com os animais de pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa sob o protocolo nº 15/2016.

Delineamento experimental, dietas, animais e suplementação de cromo

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioclimatologia Animal do Departamento de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Foram utilizados 336 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 com 21 dias de idade e peso médio de 858,20 g ($\pm 5\%$). No período de 1 a 21 dias as aves foram criadas na temperatura de conforto térmico de acordo com preconizado pelo manual da linhagem Cobb 500 (COBB-VANTRESS, 2013) e receberam ração basal de acordo com o recomendado por Rostagno et al. (2011)(Tabela 1).

Tabela 1. Composição percentual da dieta basal fornecida no período de 1 a 21 dias de idade dos frangos de corte.

Ingredientes (g.kg ⁻¹)	Inicial (1 a 21 dias) (g.kg ⁻¹)
Milho	615,10
Farelo de soja (45%)	334,13
Óleo de soja	11,90
Fosfato bicálcico	14,90
Calcário	9,25
Sal	4,56
DL-Metionina (99%)	2,90
L-Lisina HCl (79%)	2,45
Cloreto de Colina (60%)	1,00
Suplemento vitamínico ¹	1,00
Suplemento mineral ²	1,00
Salinomicina 12% ³	0,55
Avilamicina 10% ⁴	0,10
BHT ⁵	0,10
Fitase ⁶	0,07
Inerte ⁷	1,00
Total	100,00
Composição calculada	
Proteína bruta (%)	20,40
Energia metabolizável (kcal/kg)	3000
Lisina digestível (%)	1,165
Metionina+cistina digestível (%)	0,839
Cálcio (%)	0,809
Fósforo disponível (%)	0,386
Sódio (%)	0,200

¹Composição for kg of produto: vit. A, 12.000.000 UI; vit. D3, 2.200.000 UI; vit. E 30.000 UI; vit. B1, 2.200 mg; vit B2, 6.000 mg; vit. B6, 3.300 mg; ácido

pantotênico, 13.000 mg; biotina, 110 mg; vit. K3, 2.500 mg; ácido fólico, 1.000 mg; ácido nicotínico 53.000 mg; niacina, 25.000 mg; vit. B12, 16.000 µg; e qsp., 1.000g.

²Composição for kg of produto: manganês (sulfato de manganês), 75.000 mg; ferro (sulfato de ferro), 20000 mg; selênio (selenito de sódio), 0.25 g, zinco (sulfato de zinco), 50.000 mg; cobre (sulfato de cobre), 4.000 mg; cobalto (sulfato de cobalto), 200 mg; iodo (iodato de cálcio) 1.500 mg; e qsp, 1.000 g.

³Coxistac;

⁴Surmax;

⁵Antioxidante;

⁶Fitase 500 FTU/kg;

⁷Caulim.

Durante o período experimental os animais foram criados em câmaras climáticas em estresse cíclico de calor $33,0\pm 0,8^{\circ}\text{C}$ por 12 h (7:00 h às 19 h) e posteriormente permaneceram em conforto térmico $23,0\pm 0,8^{\circ}\text{C}$ (19:01 h às 06:59), alternadamente a cada semana. Ao longo de todo o período experimental a umidade relativa foi mantida em $65,0\pm 3,5\%$.

As condições ambientais no interior das salas foram monitoradas diariamente, duas vezes ao dia (07h00 e 18h00), por meio de termômetros de bulbo seco, bulbo úmido e de globo negro, mantidos no centro das salas a uma altura de 1,20 m. Durante todo o período experimental, os dados de temperatura de bulbo seco e de umidade relativa do ar foram registrados diariamente a cada 5 minutos e mensurados por meio de sensores registradores dataloggers T/R da marca Testo, modelo H1, com resolução de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (temperatura) e 1% (umidade), e acurácia de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (temperatura) e $\pm 1\%$ (umidade) e sensores/registradores Hobo H08 Pro (-30°C a $+50^{\circ}\text{C}$, 0 a 100%) com precisão de $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $\pm 3\%$. Estes dados foram convertidos no

Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU), proposto por Buffington et al. (1981), pela Equação 1. O programa de luz adotado foi o contínuo (24 horas de luz artificial), utilizando lâmpadas fluorescentes de 30 W cada.

$$ITGU = T_{gn} + 0,36 \cdot T_{po} - 330,08 \quad (1)$$

Em que:

T_{gn} = temperatura de globo negro (K); e

T_{po} = temperatura de ponto de orvalho (K).

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados com 4 blocos (cada câmara climática), 6 tratamentos, 8 repetições (2 repetições por bloco) e 7 aves por cada unidade experimental. Os tratamentos consistiram em 6 níveis de cromo em dietas para frangos de corte criados em estresse por calor no período de 22 a 43 dias (0 – Dieta basal; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,20 mg/kg de cromo na forma de cromo metionina) adicionados de forma “on top” (Tabela 2). A dieta basal foi formulada segundo as recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2011).

Tabela 2. Composição percentual das dietas experimentais na fase de 22 a 43 dias de idade dos frangos de corte

Ingredientes (g.k ⁻¹)	Níveis de cromo (mg/kg)					
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20
Milho	637,92	637,92	637,92	637,92	637,92	637,92
Farelo de soja (45%)	302,60	302,60	302,60	302,60	302,60	302,60
Óleo de soja	26,50	26,50	26,50	26,50	26,50	26,50
Fosfato bicálcico	11,56	11,56	11,56	11,56	11,56	11,56
Calcário	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16
Sal	4,40	4,40	4,40	4,40	4,40	4,40
DL-metionina (99%)	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09
L-lisina HCl (79%)	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36
Cloreto de colina (60%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento Vitamínico ¹	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento Mineral ²	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Salinomicina 12% ³	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Avilamicina 10% ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT ⁵	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Cromo-metionina 0,1%	0,00	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20
Fitase ⁶	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Inerte ⁷	2,10	1,32	1,12	0,92	0,72	0,32
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada						
Proteína bruta (%)	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Energia Met. (Kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Lisina digestível (%)	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005
Met+Cist digestível (%)	0,733	0,733	0,733	0,733	0,733	0,733
Cálcio (%)	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683
Fósforo disponível (%)	0,319	0,319	0,319	0,319	0,319	0,319
Sódio (%)	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190

¹Composição for kg of produto: vit. A, 12.000.000 UI; vit. D3, 2.200.000 UI; vit. E 30.000 UI; vit. B1, 2.200 mg; vit B2, 6.000 mg; vit. B6, 3.300 mg; ácido pantotênico, 13.000 mg; biotina, 110 mg; vit. K3, 2.500 mg; ácido fólico, 1.000 mg; ácido nicotínico 53.000 mg; niacina, 25.000 mg; vit. B12, 16.000 µg; e qsp., 1.000g.

²Composição for kg of produto: manganês (sulfato de manganês), 75.000 mg; ferro (sulfato de ferro), 20000 mg; selênio (selenito de sódio), 0.25 g, zinco (sulfato de zinco), 50.000 mg; cobre (sulfato de cobre), 4.000 mg; cobalto (sulfato de cobalto), 200 mg; iodo (iodato de cálcio) 1.500 mg; e qsp, 1.000 g.

³Anticoccidiano;

⁴Antibiótico;

⁵Antioxidante;

⁶Fitase 500 FTU/kg;

⁷Caulim.

Desempenho produtivo e características de carcaça

Ao final de cada semana, até os 43 dias de idade, as aves e as sobras de ração foram pesadas para mensuração das variáveis de desempenho: PC (peso corporal), CRM (consumo de ração médio), GPM (ganho de peso médio) e CA (conversão alimentar).

Aos 43 dias de idade, foram amostradas duas aves de cada parcela experimental, totalizando 96 aves, selecionadas por peso corporal médio da parcela ($\pm 5\%$), para avaliação do rendimento de carcaça, de peito, de perna, de asa e de gordura abdominal. Decorridas oito horas de jejum, as aves foram acondicionadas em caixas plásticas apropriadas e transportadas à sala de abate iluminada por luz artificial azul.

Após a evisceração, o rendimento de carcaça foi obtido em relação ao peso corporal: $\% RC = (\text{peso carcaça} \times 100 / \text{peso corporal})$. O rendimento de carcaça foi aferido com cabeça, pescoço e patas. Os rendimentos de peito, de perna e de asa foram calculados em função do peso da carcaça: $\% RP = (\text{peso da parte} \times 100 / \text{peso da carcaça})$. O rendimento da gordura abdominal foi calculado em função do peso corporal em jejum das aves, obtido antes do processo de abate.

Para avaliação da qualidade da carne utilizou-se a carne de peito resfriada, sem pele e sem osso. O pH foi aferido 15 minutos e 24 hs após o

abate em temperatura ambiente, 25°C, por intermédio de um pHmetro (TecnoPON, modelo mPA210) acoplado ao eletrodo de penetração (Hanna, modelo HI 8314) e introduzido diretamente no músculo Pectoralis major.

A análise de cor foi baseada no sistema CIELAB (L^* , a^* , b^*), utilizando-se um colorímetro Minolta, modelo CR 400, o qual fornece três variáveis, de acordo com o Diagrama de Hunter. O valor L^* , situado no eixo vertical do diagrama, mede a luminosidade ou a percentagem de refletância, variando de 0 (branco) para 100 (preto). Assim, podem-se determinar objetivamente as características pálida, normal ou escura. O valor de a^* , situado no eixo horizontal, mede a variação entre a cor vermelha e a verde. Já o valor de b^* mede a variação entre o amarelo e o azul.

Para determinar a capacidade de retenção de água (CRA), utilizou-se o método descrito por Hamm (1960), sendo pesadas amostras de carne com peso médio de cinco gramas, as quais foram colocadas entre dois papéis filtro (12,5 cm de diâmetro) e entre duas placas de vidro (12 x 12 x 1 cm). Sobre essa placa colocou-se um peso de 10 kg para promover pressão, por um período de cinco minutos. Para o cálculo da capacidade de retenção de água, levou-se em consideração a diferença entre o peso inicial e o peso final das amostras.

Para a determinação da perda de peso por coacção, utilizou-se a metodologia proposta por Cason et al. (1997), sendo retirado o filé do peito do frango, o qual foi pesado e embalado em papel alumínio e, posteriormente, colocado em uma chapa com aquecimento a 180°C. O aquecimento foi monitorado por um termômetro, até atingir a temperatura interna de 74°C. Após

esse procedimento, a amostra ficou em temperatura ambiente para ser resfriada. Para obtenção do cálculo da perda de peso por coacção, levou-se em consideração o peso do filé natural e a perda de peso pós-cozimento, da seguinte forma:

$\% \text{ PPC} = (\text{PFPC} \times 100 / \text{PFN})$, em que:

PPC = perda de peso por coacção;

PFPC = peso do filé pós-coacção;

PFN = peso do filé natural.

A análise da força de cisalhamento (FC) foi realizada por meio de um texturômetro *Stable Micro Systems TAXT 2 PLUS* acoplado com um probe *blade set V Wanner Bratzler*, sendo considerado o pico de força máximo gerado durante a análise. O equipamento foi calibrado com peso padrão de 5 kg e a velocidade de descida e corte do dispositivo foi de 200 mm min^{-1} . Para as análises foram usadas amostras remanescentes da análise da perda de peso por coacção, nas quais foram retiradas sub-amostras em forma de paralelepípedo 1 x 1 x 2 cm (altura, largura e comprimento), as quais foram dispostas com a fibra orientada no sentido perpendicular à probe.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados por meio da análise de variância e de regressão utilizando o Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG, 2007), versão 9.1 da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-

se o teste “t” e no coeficiente de determinação adotando-se o nível de até 0,05 de probabilidade para ambos.

RESULTADOS

Os dados da temperatura do ar, de umidade relativa do ar e de índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU) estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios de temperatura do ar, de umidade relativa e de índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU) durante o estresse por calor em cada semana de criação dos frangos de corte.

Fases	Temperatura do ar (°C)	Umidade relativa do ar (%)	ITGU
22 – 28	33,2 ± 0,45	64,0 ± 2,5	82,9 ± 1,2
29 – 35	33,4 ± 0,56	65,0 ± 2,5	83,1 ± 1,3
36 – 43	33,8 ± 0,53	66,5 ± 3,0	83,7 ± 1,5

Desempenho produtivo

Na tabela 4 encontram-se os valores médios para as variáveis de peso corporal (PC), ganho de peso médio (GPM) e conversão alimentar (CA) nos períodos de criação dos frangos de corte em estresse por calor.

Tabela 4. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) das variáveis de peso corporal (PC), consumo de ração médio (CRM), ganho de peso médio (GPM) e conversão alimentar (CA) dos frangos de corte em todos os períodos de criação.

Variáveis	Níveis de cromo (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20		
PC (g)								
28 dias	1296	1306	1314	1310	1308	1318	1,76	0,1452
¹ 35 dias	1724	1787	1795	1804	1791	1805	3,41	0,0165
43 dias	2318	2429	2403	2420	2395	2419	1,68	0,1522
CRM (g)								
22–28 dias	668	668	670	666	659	671	4,53	0,9999
29–35 dias	926	917	923	922	936	928	2,47	0,2064
36–43 dias	1251	1220	1237	1247	1228	1245	2,69	0,9999
² 22–43 dias	3186	3174	3188	3189	3190	3195	1,98	0,0479
GPM (g)								
22–28 dias	439	447	455	451	451	460	5,35	0,1359
29–35 dias	477	481	480	493	483	487	5,59	0,3723
36–43 dias	553	641	607	644	595	614	5,98	0,2542
22–43 dias	1432	1570	1544	1631	1529	1561	2,75	0,1465
CA (g/g)								
³ 22–28 dias	1,52	1,49	1,47	1,47	1,46	1,46	3,54	0,0063
29–35 dias	1,94	1,91	1,92	1,86	1,94	1,91	4,61	0,9999
36–43 dias	2,23	2,01	2,05	1,92	2,07	2,03	5,95	0,2561
⁴ 22–43 dias	2,20	2,08	2,06	1,97	2,05	2,07	3,43	0,0469
	Equações de regressão						R^2	Max/Min
	¹ PC (g) 35 = 1728,80 + 6,33412 ^{**} Cr ^{0,5} + 0,125171 [*] Cr						0,93	0,64
	² CRM (g) 22-43 = 3180,80 + 0,0127338 [*] Cr						0,63	-
	³ CA (g/g) 22-28 = 1,52238 – 0,0035969 ^{**} Cr ^{0,5} + 0,00005392 [*] Cr						0,96	1,11
	⁴ CA (g/g) 22-43 = 2,20887 – 0,0164459 [*] Cr ^{0,5} – 0,00035697 [*] Cr						0,80	0,53

^{**} = significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”. ^{*} = significativo a 5% de probabilidade pelo teste “t”. CV = Coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão.

A regressão foi significativa ($P < 0,05$) para as variáveis de peso corporal aos 35 dias, de consumo de ração médio (CRM) no período de 22-43 dias e para a conversão alimentar nos períodos de 22-28 e de 22-43 dias de idade. Para maior peso corporal aos 35 dias o nível de cromo metionina recomendado foi de 0,64 mg/kg. Para a melhora da conversão alimentar dos frangos de corte nos períodos de 22-28 e de 22-43 dias recomenda-se, respectivamente, a suplementação de 1,11 e de 0,53 mg/kg de cromo metionina em dietas quando os frangos encontram-se expostos a elevadas temperaturas ambientais (33°C durante 12h). O consumo de ração médio no período total de criação (22 a 43 dias) comportou-se de forma linear.

Rendimento de carcaça e de cortes

Na Tabela 5 encontram-se os valores médios de rendimentos de carcaça e cortes e peso absoluto de gordura abdominal de frangos de corte abatidos com 43 dias de idade.

Tabela 5. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das variáveis de rendimento de carcaça e de cortes e peso absoluto de gordura abdominal de frangos com 43 dias de idade.

Variáveis	Níveis de cromo (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.
	0	0,100	0,200	0,400	0,800	1,200		
Carcaça (%)	83,57	83,34	83,18	83,53	83,84	83,49	1,55	0,99
¹ Peito (%)	34,29	34,32	34,38	35,27	34,63	34,48	4,41	0,01
Perna (%)	26,11	25,82	25,77	26,55	25,71	25,83	4,26	0,99
Asas (%)	9,69	9,77	9,82	9,50	9,55	9,46	7,78	0,06
² GA(g)	34,46	16,34	16,25	19,58	14,77	17,01	22,56	0,04

Equações de regressão	R ²	Max/Min
¹ Peito (%) = 34,5399 – 0,00129946*Cr + 0,00000158554*Cr ²	0,94	0,41
² GA (g) = 32,7712 – 1,54148*Cr ^{0,5} + 0,00321722*Cr	0,83	0,57

* = significativo a 5% de probabilidade pelo teste “t”. CV = Coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão; GA = Gordura abdominal.

A regressão foi significativa (P<0,05) para as variáveis de rendimento de peito e de peso de gordura abdominal dos frangos de corte abatidos aos 43 dias e alimentados com dietas suplementadas com cromo metionina. Houve ajuste das equações de regressão para os devidos modelos e características de carcaça, bem como os respectivos coeficientes de determinação. Para o aumento do rendimento de peito e redução da gordura abdominal dos frangos de corte recomenda-se, respectivamente, a suplementação de 0,41 e de 0,57 mg/kg de cromo metionina nas dietas quando os frangos encontram-se expostos a elevadas temperaturas ambientais (33°C durante 12h).

Qualidade da carne

Na Tabela 6 encontram-se os valores médios das características de qualidade da carne de peito dos frangos de corte abatidos aos 43 dias de idade. A regressão não foi significativa para as variáveis em estudo (P>0,05).

Tabela 6. Valores médios de variáveis de qualidade da carne de peito dos frangos de corte abatidos com 43 dias de idade.

Variáveis	Níveis de cromo (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20		
pH 15 min	6,00	6,05	6,08	6,01	6,03	6,06	2,11	0,7869
pH 24h	5,96	5,97	5,97	5,99	5,97	5,96	2,04	0,4536
L*	49,30	48,86	48,58	48,38	48,06	48,82	4,58	0,9655
a*	4,60	4,09	4,47	4,24	4,52	4,56	18,01	0,2359
b*	7,30	7,42	7,68	7,31	7,66	7,59	10,69	0,5431
CRA (%)	42,86	41,87	42,34	42,16	42,44	42,20	9,17	0,7659
PPC (%)	23,92	24,84	24,74	24,30	23,18	25,15	9,83	0,9756
FC (kgf)	3,70	3,81	3,74	3,55	3,40	3,83	13,39	0,5678

CV = coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão; L* = luminosidade; a* = teor de vermelho; b* = teor de amarelo; CRA = capacidade de retenção de água; PPC = perda de peso por coacção; FC = força de cisalhamento.

Rendimento de vísceras

Na tabela 7 encontram-se os valores médios de peso absoluto e relativo de vísceras de frangos de corte abatidos aos 43 dias de idade. A regressão não foi significativa em todas as variáveis analisadas ($P > 0,05$).

Tabela 7. Valores médios das variáveis de peso absoluto e peso relativo de vísceras de frangos de corte abatidos com 43 dias de idade.

Variáveis	Níveis de cromo (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20		
Absoluto (g)								
Fígado	40,87	42,04	41,47	40,81	41,47	43,37	11,30	0,1311
Moela	32,59	34,48	32,43	32,97	33,11	33,76	15,84	0,9999
Coração	10,85	10,76	10,94	9,78	9,76	10,41	12,16	0,1266
Relativo (%)								
Fígado	2,13	2,17	2,18	2,13	2,17	2,25	11,37	0,1804
Moela	1,69	1,79	1,71	1,72	1,73	1,75	15,32	0,9999
Coração	0,56	0,55	0,57	0,51	0,51	0,54	12,09	0,1841

CV = coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão.

DISCUSSÃO

O estresse por calor de 33°C durante 12h, associado ao nível de 65% de umidade relativa do ar, utilizado no presente estudo, foi suficiente para provocar desconforto às aves, simulando variações de amplitude térmica que acontecem com frequência em galpões abertos, situados em regiões de clima quente, ou no período de verão em quase todo território nacional. Afinal, Vaz et al. (2009) avaliaram a inclusão de cromo metionina em dietas para frangos de corte criados em estresse por calor (32°C) e observaram que ambientes com ITGU calculado em 82,9 em diante, é um indicativo de estresse para frangos de corte a partir dos 22 dias de idade.

No presente estudo houve efeito dos níveis de cromo metionina no peso corporal aos 35 dias, no consumo de ração no período de 22 a 43 dias, bem como na conversão alimentar nos períodos de 22 a 35 e 22 a 43 dias de idade. Noori et al. (2012) observaram que a suplementação de 0,80 mg/kg de cromo metionina em dietas para frangos de corte criados em alta temperatura (33°C) no período de 21 a 42 dias de idade, aumentou o consumo de ração e o ganho de peso, sem interferir na conversão alimentar. Silva et al. (2014) afirmaram que o nível de 0,70 mg/kg de cromo metionina, melhorou a conversão alimentar de frangos de corte criados em galpões abertos com temperaturas máximas de 36°C. Jahanian & Rasouli (2015) avaliaram a suplementação de 0,50 mg/kg de cromo metionina na dieta para frangos de corte criados em estresse por calor (35°C) e observaram melhora na eficiência alimentar, no consumo de ração e

no ganho de peso no período total de criação. Huang et al. (2016) observaram aumento no ganho de peso médio diário de frangos de corte criados em estresse por calor (33°C) e alimentados com dietas suplementadas com 2,00 mg/kg de cromo propionato no período de 15 a 42 dias de idade. Moeini et al. (2011) avaliaram duas fontes de cromo (cromo picolinato e cromo metionina) e dois níveis (0,80 e 1,20 mg/kg) de suplementação em dietas para frangos de corte criados em estresse por calor (33°C) e não observaram efeito nos parâmetros de desempenho produtivo. No entanto, Ghazi et al. (2012) avaliaram dois níveis de cromo metionina (0,60 e 1,20 mg/kg) em dietas para frangos de corte criados em estresse por calor e não observaram efeito no ganho de peso, no consumo de ração e na conversão alimentar até os 49 dias de idade das aves. De acordo com esses autores, as principais diferenças nos resultados de desempenho envolvendo a suplementação de cromo na dieta de frangos de corte, podem estar relacionadas às variabilidades de higiene nos criatórios, desafio sanitário local, gravidade do agente estressor e também as fontes e dosagens utilizadas.

Os efeitos positivos sobre o ganho de peso e a conversão alimentar observados no presente estudo podem ser justificados pelo efeito do cromo em potencializar a ação da insulina aumentando, conseqüentemente, a utilização da glicose e de aminoácidos para o crescimento (SAHIN et al., 2010). Esse aumento de sensibilidade é provocado pela substância de ligação ao cromo de baixo peso molecular (LMWCr) ou cromodulina (VINCENT, 2010). A partir de então, ocorrem cascatas de sinais celulares que irão ativar os transportadores de glicose (GLUT2 e GLUT4) e aminoácidos e também agir em fosfotirosina fosfatases nos adipócitos, diversificando e otimizando o metabolismo animal

(DAVIS et al., 1996; SAHIN et al., 2017). As consequências deste processo são menor concentração de glicose plasmática, diminuição do processo de gliconeogênese no fígado, e menor transformação de glicose e de aminoácidos em gordura a ser depositada.

No presente estudo houve redução do peso absoluto de gordura abdominal e aumento de rendimento de peito na carcaça das aves ao suplementar cromo metionina na dieta. Semelhantes resultados foram encontrados por Habibian et al. (2013) que observaram maior rendimento de peito ao suplementar as dietas para frangos de corte criados em estresse por calor com 1,20 mg/kg de cromo metionina. Zha et al. (2009) encontraram além de aumento no rendimento de peito, maior concentração de carne de peito e redução da gordura abdominal quando os frangos foram alimentados com dietas suplementadas com 0,50 mg/kg, independente da fonte de cromo utilizada. Toghyani et al. (2012) e Ebrahimzadeh et al. (2013) também observaram redução da gordura abdominal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com 1,50 e 0,80 mg/kg de cromo ácido nicotínico e de cromo metionina, respectivamente.

O aumento na concentração de carne na carcaça pode se dar pela evidência de que a suplementação com cromo na dieta de frangos de corte reduz a perda de músculo, aumenta a expressão de miosina e de actina e aumenta a proteção celular contra o choque térmico (RAO et al., 2012; PAN et al., 2013). E isto se dá de modo mais evidente no peito dos frangos pelo fato deste corte representar, cerca de, 50% da proteína total da carcaça. Já a redução da gordura abdominal se dá pelo fato do cromo inibir a produção do

fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) que por sua vez pode inibir a lipogênese em adipócitos devido à diminuição dos níveis de lipoproteína lipase, GLUT-4 e acetil-coA-sintetase (SETHI & HOTAMISLIGIL, 1999; JAIN & KANNAN, 2001).

Com relação à qualidade da carne de frangos de corte é possível afirmar que o estresse crônico por calor aumenta a concentração de lactato no músculo, contribuindo, conseqüentemente, para o declínio nos níveis de pH da carne do peito a níveis insatisfatórios (PETRACCI & BAÉZA, 2011). Zhang et al. (2012) afirmaram que o estresse cíclico também pode provocar queda na qualidade da carne em menor grau e seus efeitos devem ser mensurados. O surgimento de carne PSE (Pale, soft, exudative) está entre os principais efeitos deletérios ocorre na coloração da carne (ZEFERINO et al., 2016). A carne PSE em frangos de corte pode ser detectada pela combinação dos valores de pH (abaixo de 5,8) e de cor (valor L* acima de 52,0) medidos 24 horas pós-abate (OLIVO et al., 2001). Além disso, a perda de peso por coacção no peito é outro fator determinante para aferir qualidade na carne e pode influenciar diretamente o rendimento industrial na produção de derivados cárneos como produtos pré-fabricados, congelados e processados. As variáveis de cor (L, a* e b*), capacidade de retenção de água, perda de peso por coacção e a força de cisalhamento são parâmetros de qualidade da carne, influenciáveis pelo pH 24 após o abate (STERTEN et al., 2009). Isto explica a ausência de variação na qualidade da carne dos frangos em estudo.

Oba et al. (2007) e Zhang & Kim (2014) observaram aumento na luminosidade (L) da carne de peito ao suplementarem 0,40 mg/kg de cromo

levedura e de cromo metionina, respectivamente, em dietas para frangos de corte criados em estresse por calor. Olufemi & Bosedí et al. (2011) observaram maior perda de peso por coacção no peito de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com 0,25 mg/kg de fonte inorgânica (cloreto de cromo). Huang et al. (2016) observaram maior perda de peso por coacção e redução nos valores de b^* no peito das aves ao suplementarem cromo proprionato, ao nível de 2,00 mg/kg, em dietas para frangos de corte criados em estresse por calor. O aumento dos valores de L e de perda de peso por coacção indicam maior migração de água que estava contida no interior do peito para o meio externo (OLIVEIRA et al., 2015). Devido a isso, aumenta-se também a perda de nutrientes e de material exsudato que utilizam a água como veículo, e talvez isto explique a redução encontrada nos valores de b^* . No entanto, no presente estudo não foram observados efeitos nas variáveis de cor e de capacidade de retenção de água, que são medidas indiretas dos processos de perda de qualidade, associados ao estresse por calor.

O coração, a moela e o fígado são órgãos com elevada atividade e geração de calor, pois estão intimamente ligados ao adequado funcionamento do metabolismo para manutenção e produção. Haq et al. (2016) ao revisar a utilização de suplementos de cromo para o setor avícola, afirmaram que existe uma tendência de deposição e/ou acúmulo desse metal, principalmente, no fígado e no coração. Rao et al. (2012) e Sirirat et al. (2012) não identificaram efeito da inclusão de Cr nas dietas sobre peso do fígado de frangos de corte criados em condições normais de temperatura ambiente. Habibian et al. (2013) ao avaliarem duas fontes (cromo cloreto e cromo metionina) e dois níveis (0,60 e 1,20 mg/kg) de suplementação de Cr em dietas para frangos de corte criados

em estresse cíclico de calor não observaram efeito no rendimento de coração e de fígado. Zhang e Kim (2014) também não observaram efeito da suplementação de diferentes níveis de cromo metionina (0,20, 0,30 e 0,50 mg/kg) nos rendimentos de fígado e de moela. No entanto, Sahin et al. (2002) observaram aumento linear nos rendimentos de fígado, de moela e de coração em frangos de corte criados em estresse por calor e alimentados com dietas contendo cromo na forma de cromo picolinato.

Os rendimentos de fígado encontrados no presente trabalho foram, em média, 28,86% menores do que os encontrados por Sirirat et al. (2012) que avaliaram dois níveis (0,50 e 3,00 mg/kg) de Cr-nano-composto em dietas para frangos de corte criados em condição normal de temperatura ambiente. Isto ocorre devido ao menor rendimento dos órgãos metabolicamente ativos em aves criadas em estresse por calor, comparadas com aquelas criadas em ambiente de termoneutralidade. Tal fato pode evidenciar que o animal consome alimento e se desenvolve de acordo com sua capacidade de dissipar o calor resultante do seu metabolismo, tendo assim uma relação direta com as condições ambientais, genéticas, variáveis fisiológicas e características relacionadas ao aporte adequado de nutrientes via o fornecimento de rações otimizadas. Assim, a suplementação dietética com cromo metionina pode apresentar-se como ferramenta nutricional importante para mitigação dos efeitos deletérios, no desempenho e nas características de carcaça, provocados pela exposição de frangos de corte a altas temperaturas ambientais.

CONCLUSÃO

A suplementação de 0,57 mg/kg de cromo metionina com Cr na forma de Cr-metionina em dietas para frangos de corte criados em estresse cíclico por calor, contribui para a melhora do desempenho produtivo, bem como aumenta o rendimento de peito e reduz o teor de gordura abdominal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, a Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio na condução da pesquisa e a Zinpro Corporation pelo financiamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKBARIAN, A.; MICHIELS, J.; DEGROOTE, J.; MAJDEDDIN, M.; GOLIAN, A.; SMET, S.D. Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 7, p. 1-14, 2016.
- BUFFINGTON, D.E.; COLLASSO-AROCHO, A.; CANTON, G.H.; PITT, D. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transaction of the ASAE**, v.24, n.3, p.711-714, 1981.

CALEFI, A.S., QUINTEIRO-FILHO, W.M., FERREIRA, A.G.P., AND PALERMO-NETO, J. Neuroimmunomodulation and heat stress in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 3, p. 493-504, 2017.

CASON, J.A.; LYON, C.E.; PAPA, C.M. Effect of muscle opposition during rigor on development of broiler breast meat tenderness. **Poultry Science**, v. 76, n. 5, p. 785-787, 1997.

COBB-VANTRESS. 2013. Broiler Management Guide. Arkansas: Cobb-Vantress USA, 73p. 2013.

DAVIS, C.M.; SUMRALL, K.H.; VINCENT, J.B. The biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). **Biochemistry**, v. 35, n. 39, p. 12963-12969, 1996.

EBRAHIMZADEH, S.K.; FARHOOMAND, P.; NOORI, K. Effects of chromium methionine supplementation on performance, carcass traits, and the Ca and P metabolism of broiler chickens under heat-stress conditions. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 382-387, 2013.

GHAZI, S.H.; HABIBIAN, M.; MOEINI, M.M. Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 3, p. 309-317, 2012.

HABIBIAN, M.; GHAZI, S.; MOEINI, M. Lack of effect of dietary chromium supplementation on growth performance and serum insulin, glucose, and lipoprotein levels in broilers reared under heat stress condition. **Biological Trace Element Research**, v. 153, n. 1-3, p. 205-211, 2013.

HAMM, R. Biochemistry or meat hydratation: advances in food research. **Cleveland**, v. 10, n. 2, p. 335-443, 1960.

HAQ, Z.; JAIN, R.K.; KHAN, N.; DAR, M.Y.; ALI, S.; GUPTA, M.; VARUN, T.K. Recent advances in role of chromium and its antioxidant combinations in poultry nutrition: A review. **Veterinary World**, v. 9, n. 12, p. 1392-1399, 2016.

HUANG, Y.; YANG, J.; XIAO, F.; LLOYD, K.; LIN, X. Effects of supplemental chromium source and concentration on growth performance, carcass traits, and meat quality of broilers under heat stress conditions. **Biological Trace Element Research**, v. 170, n. 1, p. 216-233, 2016.

JAHANIAN, R.; RASOULI, E. Dietary chromium methionine supplementation could alleviate immunosuppressive effects of heat stress in broiler chicks. **Journal Animal Science**, v. 93, n. 7, p. 3355-3363, 2015.

JAIN, S.K.; KANNAN, K. Chromium chloride inhibits oxidative stress and TNF- α secretion caused by exposure to high glucose in cultured U937 monocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 289, n. 3, p. 687-691, 2001.

MOEINI, M.M.; BAHRAMI, A.; GHAZI, S.; TARGHIBI, M.R. The effect of different levels of organic and inorganic chromium supplementation on production performance, carcass traits and some blood parameters of broiler chicken under heat stress condition. **Biological Trace Element Research**, v. 144, n. 1-3, p. 715-724, 2011.

MOHAMMED, H.H.; EL-SAYED, B.M.; ABD EL-RAZIK, W.M.; ALI, M.A.; ABD EL-AZIZ, R.M. The influence of chromium sources on growth performance,

economic efficiency, some maintenance behaviour, blood metabolites and carcass traits in broiler chickens. **Global Veterinaria**, v. 12, n. 5, p. 599-605, 2014

NOORI, K.; FARHOOMAND, P.; EBRAHIMZADEH, S.K. Effect of chromium methionine supplementation on performance and serum metabolites in broiler chickens thermoneutral and under heat-stress conditions. **Iran Journal of Applied Animal Science**, v. 2, n. 1, p. 79-82 485, 2012.

OBA, A.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; LEONEL, F.R.; PELICANO, E.R.L.; ZEOULA, N.M.B.; BOLLELI, I.C. Qualidade da carne de frangos de corte submetidos a dietas com cromo, criados em diferentes temperaturas ambientais. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v. 29, n. 2, p. 143-149, 2007.

OLIVO, R.; SOARES, A.L.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. **Journal of Food Biochemistry**, v. 25, n. 4, p. 271-283, 2001.

OLUFEMI, A.A.; BOSEDE, M.A. Effect of inorganic chromium supplementation on performance, meat quality, residual chromium and mineral composition of heat-stress broiler birds. **International Journal of AgriScience**, v. 1, n. 7, p. 373-380, 2011.

PAN, Y.Z.; WU, S.G.; DAI, H.C.; ZHANG, H.J.; YUE, H.Y.; QI, G.H. Solexa sequencing of microRNAs on chromium metabolism in broiler chicks. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 6, n. 3, p. 137-153, 2013.

PETRACCI, M.; E, BAÉZA. Harmonization of methodologies for the assessment of poultry meat quality features. **World`s Poultry Science Journal**, v. 67, n. 1, p. 137-151, 2011.

RAJALEKSHMI, M.; SUGUMAR, C.; CHIRAKKAL, H.; RAO, S.V. R. Influence of chromium propionate on the carcass characteristics and immune response of commercial broiler birds under normal rearing conditions. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 574-580, 2014.

RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.; PANDA, A.K.; POONAM, N.S.; MURTHY, O.K.; SUNDER, G.S. Effect of dietary supplementation of organic chromium on performance, carcass traits, oxidative parameters and immune responses in commercial broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 147, n. 1-3, p. 135-141, 2012.

RAO, S.V.R.; PRAKASH, B.; RAJU, M.V.L.N.; PANDA, A.K.; KUMARI, R.K. Effect of supplementing organic forms of zinc, selenium and chromium on performance, anti-oxidant and immune responses in broiler chicken reared in tropical summer. **Biological Trace Element Research**, v. 172, n. 2, p. 511-520, 2016.

OLIVEIRA, F.R.; BOARI, C.A.; PIRES, A.V.; MOGNATO, J.C.; CARVALHO, R.M.S.; SANTOS JÚNIOR, M.A.; MATTIOLI, C.C. Jejum alimentar e qualidade da carne de frango de corte tipo caipira. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, n. 3, p. 667-677, 2015.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C. **Tabelas Brasileiras Para**

Aves E Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 3ª Edição. Viçosa: UFV. 252p, 2011.

SAEG - **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; ONDERIC, M.; GURSU, F.; CIKIM, G. Optimal dietary concentration of chromium for alleviating the effect of heat stress on growth, carcass qualities, and some serum metabolites of broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 89, n. 1, p. 53-64, 2002.

SAHIN, N.; AKDEMIR, F.; TUZCU, M.; HAYRLI, A.; SMITH, M.O.; SAHIN, K. Effects of supplemental chromium sources and levels on performance, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in heat-stressed quails. **Animal Feed Science and Technology**, v. 59, n. 3-4, p. 143-149, 2010.

SAHIN, N.; HAYRLI, A.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; AKDEMIR, F.; KOMOROWSKI, J.R.; SAHIN, K. Effects of supplemental chromium form on performance and oxidative stress in broilers exposed to heat stress. **Poultry Science**, v. 96, n. 12, p. 4317-4324, 2017.

SAMANTA, S.; HALDAR, S.; BAHADUR, V.; GHOSH, T.K. Chromium picolinate can ameliorate the negative effects of heat stress and enhance performance, carcass and meat traits in broiler chickens by reducing the circulatory cortisol level. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 88, n. 5, p. 787-796, 2008.

SETHI, J.K.; HOTAMISLIGIL, G.S. The role of TNF α in adipocyte metabolism. **Cell Developmental Biology**, v. 10, n. 1, p. 19-29, 1999.

SILVA, S.R.G.; ABREU, M.L.T.; LOPES, J.B.; LEAL, D.I.B.; ALMENDRA, S.N.O.; SILVA, S.M.M.S.; COSTA, S.E.M. Desempenho e resposta imune de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com cromo na forma orgânica. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 21, n. 3, p. 199-203, 2014.

SIRIRAT, N.; LU, J.J.; HUNG, A.T.Y.; CHEN, S.Y.; LIEN, T.F. Effects different levels of nanoparticles chromium picolinate supplementation on growth performance, mineral retention, and immune responses in broiler chickens. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 4, n. 12, p. 48-58, 2012.

STERTEN, H.; FROYSTEIN, T.; OKSBJERG, N.; REHNBERG, A.C.; EKKER, A.S.; KJOS, N.P. Effects of fasting prior to slaughter on technological and sensory properties of the loin muscle (*M. longissimus dorsi*) of pigs. **Meat Science**, v. 83, n. 3, p. 351–357, 2009.

TOGHYANI, M.; GHEISARI, A.A.; KHODAMI, A.; TOGHYANI, M.; MOHAMMADREZAEI, M.; BAHADORAN, R. Effect of dietary chromium yeast on thigh meat quality of broiler chicks in heat stress condition. **International Journal of Biology Life Sciences**, v. 6, n. 12, p. 196-199, 2010.

TOGHYANI, M.; TOGHYANI, M.; SHIVAZAD, M.; GHEISARI, A.A.; BAHADORAN, R. Chromium supplementation can alleviate the negative effects of heat stress on growth performance, carcass traits, and meat lipid oxidation of broiler chicks without any adverse impacts on blood constituents. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 2, p. 171-180, 2012.

VAZ, R.G.M.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L.; ALBINO, L.F.T.; OLIVEIRA, W.P.; SILVA, B.A.N. Levels of dietary chromium in rations for male broilers kept under heat stress from one to 42 days of age. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 2, p. 484-490, 2009.

VINCENT, J.B. The biochemistry of chromium. **Journal Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 715-718, 2000.

VINCENT, J.B. Chromium: celebrating 50 years as an essential element? **Dalton Transactions**, v. 39, v. 16, p. 3787-3794, 2010.

ZEFERINO, C.P.; KOMIYAMA, C.M.; PELÍCIA, V.C.; FASCINA, V.B.; AOYAGI, M.M.; COUTINHO, L.L.; SARTORI, J.R.; MOURA, A.S.A.M.T. Carcass and meat quality traits of chickens fed diets concurrently supplemented with vitamins C and E under constant heat stress. **Animal**, v. 10, n. 1, p. 163-171, 2016.

ZHA, L.Y.; ZENG, J.W.; CHU, X.W.; MAO, L.M.; LUO, H.J. Efficacy of trivalent chromium on growth performance, carcass characteristics and tissue chromium in heat-stressed broilers chicks. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 10, p. 1782-1786, 2009.

ZHANG, Z.Y.; JIA, G.Q.; ZUO, J.J.; ZHANG, Y.; LEI, J.; REN, L.; FENG, D.Y. Effects of constant and cyclic heat stress on muscle metabolism and meat quality of broiler breast fillet and thigh meat. **Poultry Science**, v. 91, n. 11, p. 2931-2937, 2012.

ZHANG, S.; KIM, I.H. Effects of Cr-methionine supplementation on growth performance, relative organ weight, immune hormones, and meat quality of

broiler chicks under heat stress. **Indian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 5, p. 511-515, 2014.

4. ARTIGO 3 – Variáveis fisiológicas e expressão gênica de HSP 70 e IGF-1 de frangos de corte criados em estresse cíclico por calor e alimentados com dietas suplementadas com cromo metionina

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de cromo metionina em dietas para frangos de corte criados em estresse cíclico de calor (33°C por 12h) no período de 22 a 43 dias de idade, nos parâmetros de temperaturas corporais, de órgãos linfoides, na concentração de hormônios e metabólitos sanguíneos e na expressão gênica de HSP-70 e de IGF-1. Foram utilizados 336 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 com 21 dias de idade, distribuídos em um delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados com 4 blocos (cada câmara climática), 6 tratamentos (0; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,20 mg/kg de cromo metionina), 8 repetições e 7 aves por cada unidade experimental. A temperatura corporal média teve comportamento linear aos 42 dias de idade das aves. Não houve efeito no peso absoluto e relativo dos órgãos linfoides ($P>0,05$). Com relação às variáveis de hemograma e de bioquímica sérica, houve efeito aumento na concentração de heterofilos, de T3, de T4 e redução de corticosterona ($P<0,05$), respectivamente, com comportamento quadrático para essas variáveis ($P<0,05$). Houve redução na expressão de HSP-70 ao se comparar todos os níveis de suplementação de cromo metionina em relação ao controle. O aumento na expressão de IGF-1 ocorreu somente ao se comparar os níveis de 0,80 e de 1,20 mg/kg em relação à dieta controle. Assim, concluiu-se que a suplementação dietética de cromo metionina, em virtude da atenuação dos efeitos adversos do estresse cíclico por calor, melhora as

variáveis fisiológicas e expressão gênica de HSP70 e de IGF1 dos frangos de corte em condições de estresse por calor.

Palavras-chave: expressão gênica, hormônios, HSP70, IGF-1, metabólitos sanguíneos.

Physiological variables and gene expression of HSP 70 and IGF-1 of broiler chickens reared on cyclic heat stress and fed diets supplemented with chromium methionine

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of chromium methionine supplementation in diets for broiler chickens reared in cyclic heat stress (33°C per 12 hours) during the period from 22 to 43 days of age in the parameters of body temperatures, lymphoid organs, in the concentration of hormones and blood metabolites and in the gene expression of HSP-70 and IGF-1. A total of 336 male broilers from the Cobb 500, at 21 days of age were distributed in a completely randomized block design with four blocks (each climatic chamber), 6 treatments (0, 0.10, 0.20, 0.40; 0.80 and 1.20 mg/kg Cr as Cr-methionine), 8 replicates and 7 birds per experimental unit. Mean body temperature had a linear behavior at 42 days of age ($P < 0.05$). There was no effect on absolute and relative weight of the lymphoid organs ($P > 0.05$). In relation to the hemogram and serum biochemistry variables, there was an increase in the concentration of heterofilos, T3, T4 and corticosterone reduction ($P < 0.05$). There was a reduction in HSP-70 expression when all levels of Cr-methionine supplementation were compared to the control. The increase in IGF-1

expression occurred only when the levels of 0.80 and 1.20 mg/kg were compared to the control diet. Thus, it was concluded that the dietary supplementation of Cr in the form of Cr-methionine, due to the attenuation of the adverse effects of the cyclic stress by heat, improves the physiological variables and gene expression of HSP70 and IGF1 of the broilers under conditions of heat stress.

Key words: gene expression, hormones, HSP70, IGF-1, blood metabolites.

INTRODUÇÃO

O estresse por calor é responsável por grande prejuízo na produção avícola de corte, sobretudo em países de clima tropical e subtropical. A redução do desempenho dos frangos de corte é consequência de ajustes endócrinos e metabólicos complexos em resposta ao ambiente térmico estressante (QUINTEIRO-FILHO et al., 2010). Assim, a resposta das aves ao calor é quase sempre de caráter multifatorial, culminando no prejuízo financeiro para a indústria. Neste sentido, medidas devem ser tomadas para a atenuação dos efeitos do calor às aves.

A suplementação de cromo nas dietas é ferramenta de grande valia, devido a suas propriedades funcionais para o metabolismo de frangos criados no calor, com reflexos no ganho de produtividade (SAHIN et al., 2017). A suplementação dietética com cromo para frangos de corte criados no calor aumentou os níveis plasmáticos de T3 e T4 que, por sua vez, diminuem à medida que a temperatura ambiental se eleva (SAHIN et al., 2002; 2003). Além disso, proporciona redução na concentração sérica de corticosterona das aves

(BAHARAMI et al., 2012). O aumento das concentrações séricas de corticosterona no plasma de frangos de corte devido à exposição ao calor pode causar ainda involução dos órgãos linfoides e suprimir a imunidade das aves (GHAZI et al., 2012; JAHANIAN & RASOULI, 2015).

O cromo aumenta a sensibilidade da célula ao reconhecimento de insulina e, como consequência, torna o metabolismo de glicose, lipídeos e de aminoácidos mais eficiente (VINCENT, 2010). Têm sido reportadas alterações plasmáticas na redução de glicose, de triglicerídeos, de colesterol, de enzimas e no volume de proteínas globulares de frangos de corte expostos a elevadas temperaturas e alimentados com dietas suplementadas com fontes de cromo (TOGHYANI et al., 2006; 2012; RAO et al., 2016). O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) é importante para a síntese proteica e para redução da proteólise em frangos de corte, sobretudo em situação de estresse por calor (SACHECK et al., 2004). A expressão de IGF-1 é reduzida no estresse oxidativo com degradação proteica e redirecionamento de aminoácidos para funções distintas (DEL VESCO et al., 2013; 2015).

O estresse por calor em aves induz o estresse oxidativo e o dano celular e a expressão de proteínas do choque térmico (HSP) pode ser mensurada como indicativo dos efeitos ocasionados na produtividade (AKDEMIR et al., 2015). Em condições adversas, como o aumento de temperatura na criação das aves, os níveis de HSP são aumentados, sobretudo em linhagens de rápido crescimento (CEDRAZ et al., 2017). Isto ocorre para auxiliar a síntese e maturação de novas proteínas em relação àquelas que foram danificadas (GUPTA et al., 2007). Ezzat et al. (2017) e Rajkumar et al. (2017) observaram redução na expressão de HSP-70 em

tecidos de frangos de corte criados em estresse por calor ao suplementarem na dieta as fontes de cromo picolinato e de cromo levedura, respectivamente.

Neste sentido, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de cromo metionina em dietas para frangos de corte, criados em condições de estresse cíclico de calor, no período de 22 a 43 dias, sob as variáveis fisiológicas e na expressão gênica de HSP 70 e de IGF-1.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados com os animais de pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa sob o protocolo nº 15/2016.

Delineamento experimental, dietas, animais e suplementação de cromo

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioclimatologia Animal do Departamento de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, Brasil. Foram utilizados 336 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 com 21 dias de idade e peso médio de 858,20 g ($\pm 5\%$). No período de 1 a 21 dias as aves foram criadas na temperatura de conforto térmico de acordo com preconizado pelo manual da linhagem Cobb 500 (COBB-VANTRESS, 2013) e receberam uma ração basal de acordo com o recomendado por Rostagno et al. (2011).

Durante o período experimental os animais foram criados em câmaras climáticas em estresse cíclico de calor $33,0 \pm 0,8^\circ\text{C}$ por 12 h (07 h às 19 h) e posteriormente permaneceram em conforto térmico $23,0 \pm 0,8^\circ\text{C}$ (19:01 h às

06:59). Ao longo de todo o período experimental a umidade relativa foi mantida em $65,0 \pm 3,5\%$.

As condições ambientais no interior das salas foram monitoradas diariamente, duas vezes ao dia (07h00 e 18h00), por meio de termômetros de bulbo seco, bulbo úmido e de globo negro, mantidos no centro das salas a uma altura de 1,20 m. Estes dados foram convertidos no Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), proposto por Buffington et al. (1981). O programa de luz adotado foi o contínuo (24 horas de luz artificial), utilizando lâmpadas fluorescentes de 30 W cada.

Para avaliação das variáveis fisiológicas em estudo foi utilizado o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados com 4 blocos (cada câmara climática), 6 tratamentos, 8 repetições (2 em cada bloco) e 7 aves por cada unidade experimental. Os tratamentos consistiram em 6 níveis de Cr (0; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,20 mg/Cr) na forma de Cr-metionina, adicionados de forma "on top", em dietas para frangos de corte criados em estresse por calor no período de 22 a 43 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais na fase de 22 a 43 dias de idade dos frangos de corte

Ingredientes (g.kg ⁻¹)	Níveis de cromo (mg/kg)					
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20
Milho	637,92	637,92	637,92	637,92	637,92	637,92
Farelo de soja (45%)	302,60	302,60	302,60	302,60	302,60	302,60
Óleo de soja	26,50	26,50	26,50	26,50	26,50	26,50
Fosfato bicálcico	11,56	11,56	11,56	11,56	11,56	11,56
Calcário	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16
Sal	4,40	4,40	4,40	4,40	4,40	4,40
DL-metionina (99%)	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09
L-lisina HCl (79%)	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36
Cloreto de colina (60%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento Vitamínico ¹	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento Mineral ²	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Salinomicina 12% ³	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Avilamicina 10% ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT ⁵	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Cromo-metionina 0,1%	0,00	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20
Fitase ⁶	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Inerte ⁷	2,10	1,32	1,12	0,92	0,72	0,32
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada						
Proteína bruta (%)	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Energia Met. (Kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Lisina digestível (%)	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005
Met+Cist digestível (%)	0,733	0,733	0,733	0,733	0,733	0,733
Cálcio (%)	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683
Fósforo disponível (%)	0,319	0,319	0,319	0,319	0,319	0,319
Sódio (%)	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190

¹Composição for kg of produto: vit. A, 12.000.000 UI; vit. D3, 2.200.000 UI; vit. E 30.000 UI; vit. B1, 2.200 mg; vit B2, 6.000 mg; vit. B6, 3.300 mg; ácido pantotênico, 13.000 mg; biotina, 110 mg; vit. K3, 2.500 mg; ácido fólico, 1.000 mg; ácido nicotínico 53.000 mg; niacina, 25.000 mg; vit. B12, 16.000 µg; e qsp., 1.000g.

²Composição for kg of produto: manganês (sulfato de manganês), 75.000 mg; ferro (sulfato de ferro), 20000 mg; selênio (selenito de sódio), 0.25 g, zinco (sulfato de zinco), 50.000 mg; cobre (sulfato de cobre), 4.000 mg; cobalto (sulfato de cobalto), 200 mg; iodo (iodato de cálcio) 1.500 mg; e qsp., 1.000 g.

³Anticocidiano;

⁴Antibiótico;

⁵Antioxidante;

⁶Fitase 500 FTU/kg;

⁷Caulim.

Variáveis fisiológicas

Temperaturas corporais

Aos 28 e aos 42 dias de idade foram aferidas as temperaturas superficiais de crista, cabeça, barbela, dorso, asa, peito e pata das aves com uso de um termômetro de infravermelho com mira a *laser*, modelo TI-870 Instrutherm[®], com resolução de 0,1°C e precisão de ±1,0°C, a uma distância de aproximadamente 10 cm das aves. Posteriormente, foi calculada a temperatura superficial média (TSM) (°C) de acordo com Dahlke et al. (2005), através da equação (1).

$$TSM = (0,12 Tasa) + (0,03 Tcab) + (0,15 Tcan) + (0,70 Tdor) \quad (1)$$

Em que:

Tasa = Temperatura da asa (°C);

Tca = Temperatura da cabeça (°C);

Tcan = Temperatura da canela (°C);

Tdor = Temperatura do dorso (°C).

Para aferir a temperatura cloacal (TCL) (°C) foi utilizado um termômetro clínico digital com precisão de ±0,1°C introduzido na cloaca das aves até a estabilização da leitura. Posteriormente foi calculada a temperatura corporal média (TCM) (°C) de acordo com a equação proposta por Richards (1971) (2).

$$TCM = (0,30 TMP) + (0,70 TCL) \quad (2)$$

Em que:

TMP = Temperatura média da pele (°C);

TCL = Temperatura cloacal (°C).

Rendimento de órgãos linfoides

Aos 43 dias de idade foram abatidas duas aves por unidade experimental para avaliar o peso absoluto e relativo do baço e da bursa. Para tal as aves foram insensibilizadas, abatidas por sangria e tiveram seus órgãos retirados e posteriormente pesados.

Hormônios, hemograma e bioquímica sérica

Aos 43 dias de idade foram coletadas amostras de sangue de duas aves com peso médio de cada parcela experimental ($\pm 5\%$), totalizando 96 amostras para mensurar dosagens hormonais (T3, T4 e corticosterona) e hemograma completo (eritrograma e leucograma) e bioquímica sérica (proteína, albumina, ácido úrico, colesterol total, glicose e triglicérides). A coleta de sangue foi realizada por punção cardíaca e, posteriormente, o sangue coletado foi armazenado em tubos do tipo *ependorfs* de polietileno. Após a formação de coágulo, o sangue foi centrifugado sob refrigeração (3220g/15 minutos e temperatura ao redor de 4°C) para obtenção do soro, o qual foi armazenado em freezer, a – 80°C até a realização das análises hormonais.

Os ensaios para as dosagens hormonais foram executados utilizando-se a técnica de radioimunoensaio (RIE). Para as análises de T3, de T4 e de corticosterona foram utilizados kits comerciais marcados por iodo radioativo,

segundo as especificações do fabricante para cada tipo de hormônio a ser mensurado.

A determinação dos hematócritos foi realizada por meio do método de microhematócrito, utilizando-se tubo capilar centrifugado a 11.360 g por 5 minutos em microcentrifuga. A contagem de hemácias e de leucócitos foi realizada em hemocítômetro em amostras de sangue diluídas a 1:200, em corante de Natt e Herrick's. A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina (Kit enzimático Bioclin) com leitura em espectrofotômetro. A contagem diferencial leucocitária foi realizada em esfregaço sanguíneo, fixado com álcool metílico (Metanol) e posteriormente foi submetido à coloração com o corante rápido para hematologia (Panótipo rápido). A partir dos resultados foi determinado a relação heterofilo:linfócito, para a identificação do estresse por calor nos animais e sua relação com o sistema imune.

Expressão gênica de HSP-70 e IGF-1

Para as análises de expressão dos genes HSP70 (Heat Shock Protein kD) e de IGF-1 (fator de crescimento semelhante a insulina) no músculo *Pectoralis major*, um total de 24 aves foram criadas em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições para cada um dos 6 tratamentos. Aos 43 dias de vida, as aves foram mantidas por 12h sob estresse por calor (33°C), então foram insensibilizadas, abatidas por sangria e tiveram a pele da região peitoral retirada. Imediatamente após esse processo foi coletado uma amostra de aproximadamente 2,0 cm de comprimento, 0,5 cm de largura e 0,5

cm de profundidade do músculo *Pectoralis major* direito, na região central da peça muscular. Imediatamente, as amostras foram identificadas e imersas em RNA holder (BioAgency) e armazenadas em freezer a -20°C até o momento da extração.

O mRNA total de cada amostra foi extraído utilizando-se o *RNeasy Mini Kit* (Qiagen) seguindo-se as recomendações do fabricante. Foi determinado a concentração do mRNA total utilizando o espectrofotômetro Nano Vue Plus (GE Healthcare). A integridade do RNA foi avaliada utilizando gel de agarose a 1% e visualizado por meio da luz ultra-violeta. O cDNA foi sintetizado utilizando o kit SuperScript™ III First-Strand Synthesis Super Mix (Invitrogen). Foram adicionados 6 microlitros do mRNA total, 1 μL de oligo (dT) (50 μM oligo(dT)₂₀ e 1 μL de *annealing buffer*. A mistura foi incubada por 5 minutos a 65°C e em seguida, colocada no gelo por 1 minuto. Subsequentemente, foram adicionados 10 μL de 2x First-Strand Reaction Mix solution e 2 μL da enzima SuperScript III reverse transcriptase. As amostras foram estocadas a -20°C até a análise.

As sequências dos genes foram obtidas no banco de dados NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). As sequências do set de *primers* estão disponíveis na Tabela 3. Os *primers* foram desenhados de acordo com as sequências obtidas no GeneBank, usando a ferramenta *PrimerQuest Tool* (www.idtdna.com/Primerquest/Home/Index) disponível na plataforma IDT (www.idtdna.com). Foram testados dois controles endógenos, os genes β -actina e GAPDH. Foi utilizado o gene GAPDH como controle endógeno porque houve menor variação em relação ao β -actina, quando utilizado o programa GeNorm (VANDESOMPELE et al., 2002). Todos os ensaios foram realizados em um volume final de 25 μL e em duplicata.

Tabela 2. Sequência dos primers HSP70, IGF-1, β -actina e GAPDH

Genes	Sequencia 5' → 3'
HSP70	CGTGACAATGCTGGCAATAAGCGA
	TCAATCTCAATGCTGGCTTGCGTG
IGF-1	CACCTAAATCTGCACGCT
	CTTGTGGATGGCATGATCT
β -actina	AGACATCAGGGTGTGATGGTTGGT
	TCCCAGTTGGTGACAATACCGTGT
	CCCAGCAACATCAAATGGGCAGAT
GAPDH	TGATAACACGCTTAGCACCACCCT

Foi utilizado para a PCR em tempo real, o composto fluorescente SYBR® Green PCR Master Mix (Qiagen). A reação do RT-qPCR foi realizada usando o kit de detecção SYBR Green com GoTaq qPCR Master Mix (Promega, Madison, WI, EUA), usando *primers* específicos. A amplificação de genes foi realizada em duplicata usando o sistema Quick Time PCR 7500 Fast (Applied Biosystems, Foster Cidade, CA, EUA) e os resultados foram obtidos com o programa de Sistemas de Detecção de Sequências (V.2.0.6) (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) que gerou o limiar de ciclo de parâmetros (Ct). Os valores Ct foram exportados para o Microsoft Excel para calcular a média Ct, o desvio padrão e a curva padrão para cada gene. Um controle negativo (água ultra-pura) também foi adicionado em cada ensaio. As condições de reação qPCR foram definidas da seguinte forma: desnaturação inicial a 95 ° C durante dez minutos e 40 ciclos de desnaturação a 95 ° C

durante 15 segundos. A temperatura de extensão entre 60 e 64 ° C durante um minuto foi ideal para todos os *primers*.

Análises estatísticas dos dados

Os dados das variáveis fisiológicas foram analisados por meio da análise de variância e de regressão utilizando o Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG, 2007). Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste “t” adotando-se o nível de até 0,05 de probabilidade para o coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão}/\text{SQTratamento}$) e no comportamento das características em estudo.

Para realizar a análise estatística dos dados de expressão gênica, foi utilizado a macro %QPCR_MIXED (STEIBEL et al., 2009) no software estatístico SAS, versão 9.0. Esta macro executa análises por modelos lineares mistos de dados RT-qPCR. A análise normaliza os dados usando o método $\Delta\Delta\text{CT}$ (LIVAK & SCHMITTGEN, 2001) gerando contrastes, que é o valor da expressão relativa entre o controle e o tratamento (FU et al., 2006). Para determinar se houve diferença entre tratamentos (diferentes níveis de Cr-metionina), foram feitos contrastes entre os fatores que os comparam entre si. Dentro deste modelo estatístico, o efeito dos níveis de Cr-metionina (0; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,20 mg/kg de Cr) foi considerado fixo, e o efeito dos genes foi considerado aleatório. Desta forma, foi possível testar todas as combinações lineares possíveis entre os níveis desses fatores. P-valor menor que 0,05 foi considerado.

RESULTADOS

Variáveis fisiológicas

Temperaturas corporais

Na tabela 3 encontram-se os valores médios das variáveis de temperatura cloacal (TCL), de temperatura superficial média (TSM) e de temperatura corporal média (TCM) de frangos de corte criados em estresse cíclico de calor aos 28 e 42 dias de idade (Tabela 4). Houve comportamento linear para a variável de temperatura corporal média (TCM) aos 42 dias de idade dos frangos de corte criados em estresse cíclico por calor e alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de cromo metionina.

Tabela 3. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) das variáveis de temperatura cloacal (TCL), de temperatura superficial média (TSM) e de temperatura corporal média (TCM) de frangos de corte aos 28 e 42 dias de idade.

	Níveis de Cr-metionina (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.	
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20			
28 dias									
TCL	41,00	40,91	41,05	41,15	40,98	40,81	0,84	0,3235	
TSM	33,74	33,53	33,77	34,30	33,97	33,72	2,25	0,9999	
TCM	39,95	39,89	39,69	39,98	39,92	39,85	1,76	0,9999	
42 dias									
TCL	41,60	41,65	41,23	41,85	41,61	41,47	2,09	0,9999	
TSM	36,59	36,98	36,37	35,59	36,48	36,68	2,63	0,2118	
¹ TCM	40,37	40,36	40,34	40,18	40,03	40,07	1,97	0,0473	
	Equações de regressão						R^2		
	¹ TCM 42 dias = 40,3853 – 0,000272791 * Cr							0,64	

* significativo a 5% de probabilidade pelo test "t". CV = Coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão.

Rendimento de órgãos linfoides

Na tabela 4 encontram-se os valores médios dos pesos relativos e absolutos de órgãos linfoides de frangos de corte abatidos aos 43 dias de idade. A regressão não foi significativa em todas as variáveis analisadas.

Tabela 4. Valores médios das variáveis de peso absoluto e peso relativo de órgãos linfoides de frangos de corte abatidos aos 43 dias de idade

Variáveis	Níveis de Cr-metionina (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20		
Absoluto (g)								
Baço	1,53	1,85	2,00	1,74	1,77	1,93	27,61	0,9999
Bursa	3,15	3,72	3,26	3,30	3,63	3,56	30,69	0,3467
Relativo (%)								
Baço	0,07	0,09	0,09	0,09	0,10	0,10	27,96	0,9999
Bursa	0,16	0,19	0,17	0,17	0,19	0,18	30,97	0,3366

CV = coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão.

Hormônios

Na tabela 5 encontram-se os valores médios de corticosterona, de T3 e de T4 no plasma de frangos de corte aos 43 dias de idade. Houve ajuste de equação de regressão para as variáveis de concentração plasmática de corticosterona, T3 e T4. Para a menor concentração de corticosterona plasmáticas recomenda-se a suplementação de 0,75 mg/kg de cromo metionina. Já para o aumento nas concentrações de T3 e T4 recomenda-se a suplementação de 0,47 e de 0,66 mg/kg de cromo metionina, respectivamente.

Tabela 5. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das concentrações de corticosterona (Cort.), de triiodotironina (T3) e de tiroxina (T4) no plasma de frangos de corte com 43 dias de idade.

Hormônios	Níveis de Cr-metionina (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20		
¹ Cort.	112,92	105,40	103,87	97,40	87,41	99,07	3,73	0,0119
² T3	46,14	57,24	61,20	56,86	58,26	56,52	2,22	0,0409
³ T4	1,25	1,42	1,54	1,48	1,50	1,51	6,66	0,0364
T3:T4	37,05	40,62	39,80	38,55	38,86	37,87	8,67	0,2455
	Equações de regressão					R ²	Max/Min	
	¹ Cort. = 113,081 – 0,0615318*Cr + 0,0000409269**Cr ²					0,94	0,75	
	² T3 = 47,0232 + 1,197798*Cr ^{0,5} - 0,0274563*Cr					0,84	0,47	
	³ T4 = 1,26625 + 0,02044*Cr ^{0,5} - 0,00039618*Cr					0,89	0,66	

* significativo a 5% de probabilidade pelo test “t”. Cort. = Corticosterona; T3 = Triiodotoronina; T4 = Tetraiodotironina; CV = Coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão.

Hemograma

Na tabela 6 encontram-se os valores médios das variáveis de hemograma de frangos de corte aos 43 dias de idade. Houve ajuste de equação de regressão para a variável de heterófilos, sendo que para a maior concentração no plasma de frangos de corte, recomenda-se a suplementação de 0,63 mg/kg de cromo metionina.

Tabela 6. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das variáveis de hemograma de frangos de corte com 43 dias de idade.

	Níveis de Cr-metionina (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.	
	0	0,10	0,20	0,40	0,80	1,20			
Eri	1,99	2,21	2,03	1,95	2,25	2,24	24,92	0,20	
Hmo	9,01	9,24	9,18	9,12	9,41	8,89	7,02	0,99	
Hma	27,06	27,75	27,56	27,37	28,25	26,68	7,01	0,99	
Vcm	135,17	135,25	142,93	154,18	128,12	129,81	25,46	0,99	
Hcm	47,43	46,33	47,20	51,36	42,73	45,40	26,14	0,99	
Leu	1778,75	1975,00	1981,25	2243,75	2392,75	2050,0	36,45	0,25	
Mon	56,87	80,60	56,68	72,00	49,62	60,81	45,28	0,99	
Eos	50,12	65,18	53,06	68,18	74,18	65,31	32,27	0,19	
¹ Het	576,00	578,00	617,87	639,50	655,56	580,06	45,79	0,01	
Lin	1095,56	1173,06	1454,20	1207,81	1601,37	1349,68	41,90	0,25	
H:L	0,54	0,52	0,49	0,57	0,45	0,46	45,57	0,14	
	Equações de regressão					R ²	Max/Min		

$${}^1\text{Het} = 565,883 + 0,284620^{**}\text{Cr} - 0,000225666^{**}\text{Cr}^2 \quad 0,94 \quad 0,63$$

CV = Coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão; Eri = eritrócitos; Hmo = hemoglobina; Hma = hematócrito; Vcm = volume corpuscular médio; Hcm = hemoglobina corpuscular média; Leu = leucócitos; Mon = monócitos; Eos = eosinófilos; Het = heterofilos; Lin = linfócitos; H:L = relação heterofilo/linfócito. * significativo a 5% de probabilidade pelo test "t"; ** significativo a 1% de probabilidade pelo test "t".

Bioquímica sérica

Na tabela 7 encontram-se os valores médios das variáveis de bioquímica sérica de frangos de corte criados em estresse cíclico por calor até os 43 dias de idade. Houve ajuste de equação de regressão para as variáveis colesterol total, glicose e triglicerídeos no plasma de frangos de corte, recomenda-se a suplementação de 0,63, 0,92 e de 0,49 mg/kg de cromo metionina, respectivamente.

Tabela 7. Valores médios, equações de regressão e coeficientes de determinação das variáveis de bioquímica sérica de frangos de corte com 43 dias de idade

	Níveis de Cr-metionina (mg/kg)						CV (%)	p-valor Reg.
	0	0,100	0,200	0,400	0,800	1,200		
Pro	2,94	2,95	2,96	2,83	3,08	2,90	9,90	0,99
Alb	1,50	1,60	1,46	1,45	1,54	1,43	13,17	0,99
Aur	4,00	4,25	3,25	4,12	4,75	3,62	53,21	0,99
¹ Col	157,50	117,94	109,37	112,56	122,75	105,06	14,46	0,04
² Gli	258,81	237,93	237,43	236,06	230,37	229,06	7,70	0,01
³ Tri	54,18	27,56	31,06	29,06	33,56	31,06	23,71	0,04
	Equações de regressão				R ²		Max/Min	
	¹ Col = 153,030 – 3,61706 * Cr ^{0,5} + 0,0719539 * Cr				0,77		0,63	
	² Gli = 257,278 – 1,81976 ** Cr ^{0,5} + 0,0299465 * Cr				0,94		0,92	
	³ Tri = 51,5422 – 2,21218 * Cr ^{0,5} + 0,0496662 * Cr				0,81		0,49	

CV = Coeficiente de variação; p-valor Reg. = significância da regressão; Pro = proteína total; Alb = albumina; Aur = Ácido úrico; Col = colesterol total; Gli = glicose; Tri = triglicerídeos totais. ** significativa a 1% de probabilidade pelo test “t”. * significativa a 5% de probabilidade pelo test “t”.

Expressão gênica de proteína do choque térmico 70 (HSP-70) e de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1)

Houve efeito (P<0,05) da suplementação dietética de cromo metionina na expressão relativa de HSP-70 em todos os níveis de suplementação em relação à dieta padrão ou controle (0 mg/kg de Cr-metionina)(Tabela 8)(Figura 1). No entanto, não houve efeito de expressão de HSP-70 ao se comparar os tratamentos que tiverem inclusão de cromo metionina na dieta.

Tabela 8. Valores médios de expressão relativa para o gene de proteína do choque térmico-70 (HSP-70) no peito de frangos de corte com 43 dias de idade

Comparação entre os níveis de Cr-metionina (mg/kg)	HSP-70	
	Fold Change	P- valor
0 vs 0,10	4,72	0,0011**
0 vs 0,20	4,38	0,0016**
0 vs 0,40	3,94	0,0029**
0 vs 0,80	2,39	0,0392*
0 vs 1,20	2,57	0,0269*
0,10 vs 0,20	-1,07	0,8473
0,10 vs 0,40	-1,20	0,6433
0,10 vs 0,80	-1,97	0,0985
0,10 vs 1,20	-1,83	0,1377
0,20 vs 0,40	-1,11	0,7859
0,20 vs 0,80	-1,83	0,1384
0,20 vs 1,20	-1,70	0,1904
0,40 vs 0,80	-1,64	0,2172
0,40 vs 1,20	-1,52	0,2910
0,80 vs 1,20	-1,08	0,8493

*= significativo a 5% pelo test "t"; **= significativo a 1% pelo test "t".

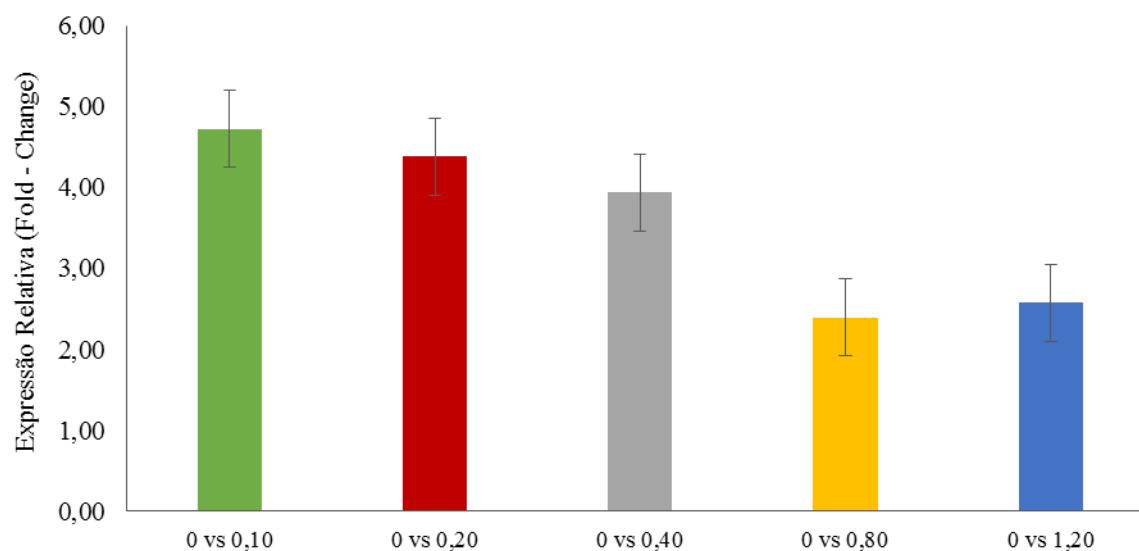


FIGURA 1. Expressão relativa dos contrastes significativos ($P < 0,05$) para o gene HSP-70 no peito de frangos de corte criados em estresse cíclico de calor

e alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de Cr-metionina.

Houve efeito na expressão relativa de IGF-1 no peito de frangos de corte para os níveis de suplementação de 0,80 e de 1,20 mg/kg de cromo metionina ao se comparar com a dieta padrão ou controle (0 mg/kg de cromo metionina)(Tabela 9)(Figura 2).

Tabela 9. Valores médios de expressão relativa do gene de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) no peito de frangos de corte com 43 dias de idade

Comparação entre os níveis de Cr-metionina (mg/kg)	IGF-1	
	Fold Change Corrigido	P- valor
0 vs 0,10	2,23	0,0941
0 vs 0,20	2,12	0,1146
0 vs 0,40	2,07	0,1275
0 vs 0,80	2,82	0,0344*
0 vs 1,20	2,77	0,0373*
0,10 vs 0,20	-1,05	0,9150
0,10 vs 0,40	-1,08	0,8684
0,10 vs 0,80	1,26	0,6126
0,10 vs 1,20	1,24	0,6401
0,20 vs 0,40	-1,03	0,9529
0,20 vs 0,80	1,32	0,5407
0,20 vs 1,20	1,30	0,5665
0,40 vs 0,80	1,36	0,5029
0,40 vs 1,20	1,34	0,5278
0,80 vs 1,20	-1,02	0,9688

*= significativo a 5% pelo test "t".

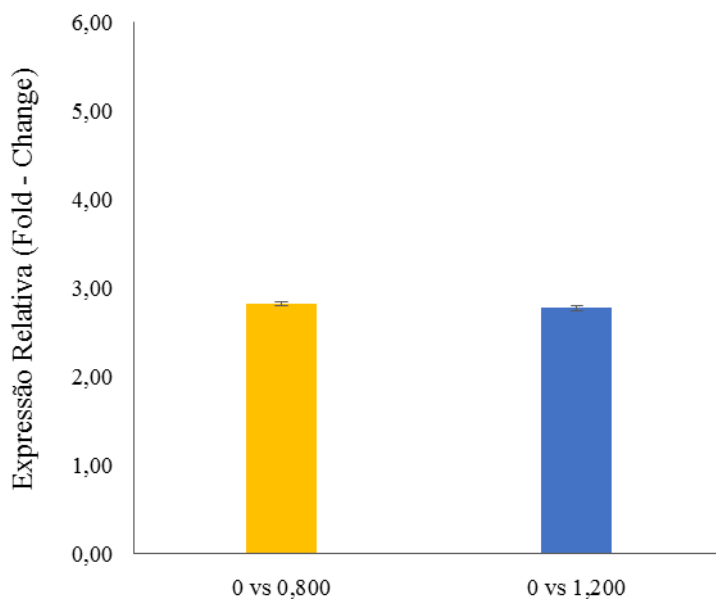


FIGURA 2. Expressão relativa dos contrastes significativos ($P < 0,05$) para o gene IGF-1 no peito de frangos de corte criados em estresse cíclico de calor e alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de Cr-metionina.

DISCUSSÃO

Dentre as variáveis de temperatura corporal de frangos de corte, a temperatura cloacal é a principal a ser analisada, pois reflete a temperatura do núcleo corporal. Giloh et al. (2012) afirmam que a temperatura interna dos frangos não sofre variações em relação ao ambiente externo e situa-se próxima de 41,5°C. No entanto, Altan et al. (2003) afirmam que pode ocorrer ligeiro aumento da temperatura retal quando os frangos são expostos a elevadas temperaturas (38°C). Rouharamini & Salarmoni (2014) estudaram dois níveis de suplementação de cromo picolinato (0,50 e 1,00 mg/kg) associados ou não a dois níveis de sulfato de zinco (40 e 80 mg) para codornas criadas em estresse cíclico por calor e observaram redução linear na temperatura cloacal aos 28 e 35 dias ao suplementar ambos nutrientes. De acordo com esses autores a

melhora da resposta imune e da capacidade antioxidante foram os fatores que contribuíram para esse comportamento. Norain et al. (2013) avaliaram a temperatura retal e a taxa respiratória de frangos de corte criados em estresse por calor que receberam dietas suplementadas com 2,00 mg/kg de cromo na forma de cromo cloreto. Esses autores afirmaram que as aves que receberam cromo na dieta tiveram menor temperatura retal e taxa respiratória em relação aos frangos da dieta controle. Talvez a associação destes fatores possa explicar o comportamento linear para a variável de temperatura corporal média aos 42 dias de idade das aves, obtida no presente trabalho à medida que níveis crescentes de Cr-metionina foram suplementados na dieta.

O estresse por calor é imunossupressor em aves e a variação do peso dos órgãos linfoides (bursa, timo e baço) é um parâmetro que pode ser utilizado para avaliação do sistema imune (RIBEIRO et al., 2008); contudo trata-se de uma medida indireta para aferir o status imune da ave. Ghazi et al. (2012) avaliaram a suplementação de 1,20 mg/kg de cromo metionina e verificaram aumento relativo do timo e do baço de frangos de corte criados em estresse cíclico por calor. Ibrahim et al. (2010) observaram efeito de aumento no peso relativo do baço de frangos de corte ao receberem suplementação dietética com 2,00 mg/kg de cromo levedura, sem contudo influenciar nos pesos de bursa e timo. No entanto, Silva et al. (2014) não observaram efeito no peso de órgãos linfoides ao realizar suplementação de cromo metionina para frangos de corte criados em estresse cíclico por calor. Fato também observado no presente trabalho.

A síntese de glicocorticoides ocorre em frangos de corte criados no estresse por calor e o cromo contribui para mitigar esses efeitos (SAMANTA et

al., 2008). Ebrahimzadeh et al. (2012) observaram que a suplementação de cromo metionina, em todos os níveis avaliados (0,20, 0,40 e 0,80 mg/kg), reduziu a concentração de cortisol no plasma de frangos de corte criados em estresse por calor. Baharami et al. (2012) avaliaram duas fontes de cromo (cromo metionina e cromo cloreto) e dois níveis de suplementação (0,80 e 1,20 mg/kg) para frangos de corte criados em estresse por calor e observaram efeito de redução de cortisol aos 42 dias, independente da fonte e do nível avaliado. No entanto, ressalta-se que a suplementação com cromo metionina teve resultado mais satisfatório em comparação ao cromo cloreto. Jahanian & Rasouli (2015) observaram que a suplementação de 1,00 mg/kg de cromo metionina para frangos de corte em estresse por calor foi suficiente para reduzir a concentração de plasmática de corticosterona e também reestabelecer os pesos normais dos órgãos linfoides, tomando como base aves criadas em ambiente de conforto térmico.

Sahin et al. (2002) avaliaram a suplementação de cromo picolinato para frangos de corte criados em estresse por calor no período de 21 a 42 dias. Os autores observaram que, além de reduzir as concentrações de corticosterona, a inclusão dietética de cromo aumentou os níveis de T3 e de T4 de maneira linear em todos os níveis avaliados (0,20, 0,40, 0,80 e 1,20 mg/kg). No entanto, no presente trabalho estas variáveis hormonais não tiveram comportamento linear. O estresse por calor desencadeia a produção de citocinas pro-inflamatórias, que por sua vez estimulam o hipotálamo a secretar hormônio corticotrópico que age na glândula adrenal produzindo corticosterona em frangos expostos a elevadas temperaturas (SAHIN et al., 2001; GHAZI et al., 2012). Devido a isso, o cromo apresenta-se como importante elemento para

aliviar o efeito supressor do calor, diminuindo os efeitos deletérios na resposta imune, e conseqüentemente melhorando o desempenho (SAHIN et al., 2010).

O perfil sanguíneo é particularmente sensível às mudanças de temperatura e pode ser um indicador potencial de respostas fisiológicas de frangos de corte expostos ao calor (ALTAN et al., 2003). As alterações quantitativas e morfológicas nas células do sangue estão ligadas ao estresse térmico, traduzido por variações nos valores de hematócrito, no número de leucócitos circulantes e no conteúdo de eritrócitos e de hemoglobina nos eritrócitos (BORGES et al., 2003). Além disso, a relação heterofilo:linfócito (H:L) constitui-se como importante parâmetro sanguíneo na avaliação da resposta inflamatória em frangos de corte criados em altas temperaturas (ROLL et al., 2010). Ghazi et al. (2012) observaram que a suplementação de cromo picolinato ao nível de 1,20 mg/kg reduziu, em até duas vezes, a H:L em frangos de corte criados em estresse cíclico por calor. Ezzat et al. (2017) também observaram redução da H:L ao suplementarem 1,20 mg/kg de cromo picolinato em dietas para frangos em estresse por calor. Ebrahimzadeh et al. (2012) observaram efeito na concentração de heterofilos e na relação H:L de frangos de corte criados em estresse por calor e alimentados com dietas contendo 0,80 mg/kg de cromo metionina. No entanto, no presente trabalho foi observado somente efeito na concentração de heterofilo.

Samanta et al. (2008) observaram redução na concentração de glicose, colesterol e cortisol no plasma de frangos de corte em estresse por calor alimentados com dietas suplementadas com 0,50 mg/kg de cromo picolinato. Noori et al. (2012) observaram que a suplementação de 0,80 mg/kg de cromo metionina, além de reduzir a concentração plasmática de triglicerídeos e de

colesterol total, reduziu também a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e aumentou de lipoproteína de alta densidade (HDL). De acordo com Souza et al. (2010) isso provavelmente ocorre porque o Cr parece inibir a enzima hidroximetilglutaril-CoA redutase, responsável pela síntese de colesterol, diminuindo a concentração plasmática de colesterol no organismo. Inúmeros trabalhos (TOGHYANI et al., 2012; HABIBIAN et al., 2013; MOHAMMED et al., 2014 e XIAO et al., 2016) apontam para a melhora do perfil bioquímico sérico de frangos de corte que receberam suplementação de cromo na dieta. Sahin et al. (2001) observaram aumento na concentração plasmática de insulina em poedeiras alimentadas com dietas contendo cromo cloreto. O aumento da sensibilidade à insulina indica maior utilização de glicose nos tecidos, menor síntese de tecido adiposo e maior direcionamento de aminoácidos para síntese proteica.

As aves podem adaptar seu metabolismo às condições fisiológicas e ambientais, que estão em constantes mudanças, e requerem respostas metabólicas coordenadas pela expressão de genes específicos na presença ou ausência de nutrientes apropriados como minerais traços como o cromo (AVEROUS et al., 2003; NOLLET et al., 2008; RAJKUMAR et al., 2017). Ezzat et al. (2017) avaliaram a suplementação de 1,20 mg/kg de cromo picolinato e observaram que houve redução na expressão relativa de HSP-70 no fígado de frangos de corte criados em estresse por calor em relação a dieta controle. Rajkumar et al. (2017) avaliaram a suplementação de 2,00 mg/kg de cromo levedura e observaram redução na expressão de HSP70 no fígado, coração, músculo e baço de frangos de corte criados em estresse por calor em comparação ao controle. Sendo que a maior expressão deu-se no fígado e no

coração. Akdemir et al. (2015) avaliaram a suplementação de cromo histidinato em dois níveis (0,40 e 0,80 mg/kg) na dieta de codornas japonesas criadas em estresse por calor e observaram redução de 29% na expressão de HSP70 no fígado das aves. De acordo com esses autores isto indica maior dano celular oxidativo no fígado e aumento de produção de radicais livres. Rao et al. (2012) e em (2016) observaram que a suplementação de cromo metionina e de cromo levedura para frangos de corte aumentou a produção das enzimas glutathione peroxidase, glutathione reductase, superóxido dismutase e catalase, que por sua vez reduziram a peroxidação lipídica no plasma das aves criadas em conforto térmico e estresse por calor. Tais resultados evidenciam que o cromo é capaz de reduzir o estresse oxidativo ocasionado às células devido à exposição das aves a elevadas temperaturas.

De acordo com Khan et al. (2014) temperaturas superiores a 31°C causam a depleção de reservas antioxidantes do organismo e aumentam a peroxidação lipídica no plasma e no fígado das aves. Também é relatado que o estresse térmico desencadeia a secreção de marcadores inflamatórios, como interleucina 6, proteína C reativa e de fator de necrose tumoral alfa (NF-alfa) (SAHIN et al., 2010). Além disso, níveis aumentados de corticosterona, devido ao estresse por calor, causam excesso de radicais livres e suprime a proliferação de interleucina-2 (SIEGEL 1995; RAO et al., 2016); prejudicando a resposta imune dos frangos de corte. De acordo com Akdemir et al. (2015) o cromo reduz a produção de radicais livres e de NF-kB ocasionando diminuição da transcrição de genes formadores de fatores apoptóticos, com diminuição da proteólise e a peroxidação lipídica.

O estresse por calor também tem sido responsável por induzir a redução de expressão de IGF-1 e acelerar os processos de expressão dos componentes da via ubiquitina-proteassoma, resultando em proteólise e aumento do catabolismo. O fígado é o principal órgão de expressão de IGF-1 em frangos de corte em estresse por calor (DEL VESCO et al., 2015). No entanto, o peito também possui capacidade de expressar IGF-1 de forma relevante podendo contribuir de maneira significativa para a capacidade de síntese proteica deste músculo (VIGINALE et al., 2017; WEN et al., 2017).

O aumento da expressão de IGF-1 indica maior direcionamento de aminoácidos para a deposição proteica e menor produção de radicais livres. Afinal, o IGF1- é um mediador de GH que está ligado diretamente à síntese proteica (CRUZAT et al., 2008). Os glicocorticoides são antagonistas à ação da insulina, enquanto que o T3 é sinérgico para insulina e permissivo para GH (MACARI et al., 1994). A associação destes fatores explica o efeito benéfico da ação do Cr sobre o metabolismo de frangos de corte, pela estimulação direta da insulina.

O estresse por calor reduz as concentrações plasmáticas de cromo e sua deposição nos tecidos, além de aumentar a excreção urinária (VINCENT, 2000; 2010). Com isso, a capacidade da cromodulina em aumentar a sensibilidade ao reconhecimento da insulina pelas células alvo, pode ficar debilitada. Assim, a suplementação de cromo promove alterações endócrinas, metabólicas e de expressão de genes específicos nas aves no intuito de responder aos ajustes fisiológicos para dissipação do calor endógeno relacionado ao gradiente térmico com o ambiente externo, sem, contudo, causar depleção no desenvolvimento das aves.

CONCLUSÃO

A suplementação dietética de cromo metionina ao nível de 0,92 mg/kg melhora o perfil bioquímico plasmático e hormonal, bem como diminui a expressão de HSP-70 e aumenta o IGF-1 no peito de frangos de corte criados em estresse cíclico por calor.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, a Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio na condução da pesquisa e a Zinpro Corporation pelo financiamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAN, Ö.; PABUÇCUOĞLU, A.; ALTAN, A.; KONYALIOĞLU, S.; BAYRAKTAR, H. Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. **British Poultry Science**, v. 44, n. 4, p. 545-550, 2003

AKDEMIR, F.; SAHIN, N.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; SAHIN, K.; HAYIRLI, A. Chromium-histidinate ameliorates productivity in heat-stressed Japanese quails through reducing oxidative stress and inhibiting heat-shock protein expression. **British Poultry Science**, v. 56, n. 2, p. 247-254, 2015.

AVEROUS, J.; BRUHAT, A.; MORDIER, S.; FAFOURNOUX, P. Recent advances in the understanding of amino acid regulation of gene expression.

Journal of Nutrition, v. 133, n. 6, p. 2040-2045, 2003.

BAHRAMI, A.; MOEINI, M.M.; GHAZI, S.H.; TARGHIBI, M.R. The effect of different levels of organic and inorganic chromium supplementation on immune function of broiler chicken under heat-stress conditions.

Journal of Applied Poultry Research, v. 21, n. 2, p. 209-215, 2012.

BORGES, S.A.; MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F. Heat stress physiology and eletrolytes for broilers. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 975-334 981, 2003.

CEDRAZ, H.; GROMBONI, J.G.G.; GARCIA JUNIOR, A.A.P.; FARIAS FILHO, R.V.; SOUZA, T.M.; OLIVEIRA, E.R.; OLIVEIRA, E.B.; NASCIMENTO, C.S.; MENEGHETTI, C.; WENCESLAU, A.A. Heat stress induces expression of HSP genes in genetically divergent chickens. **PLoS ONE**, v. 12, n. 10, p. 1-15, 2017.

COBB-VANTRESS. 2013. Broiler Management Guide. Arkansas: Cobb-Vantress USA, 73p. 2013.

CRUZAT, V.F.; DONATO JÚNIOR, J.; TIRAPEGUI, J.; SCHNEIDER, C.D. Hormônio do crescimento e exercício físico: considerações atuais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 549-562, 2008.

DAHLKE, F.; GONZALES, E.; GADELHA, A.C.; MAIORKA, A.; BORGES, S.A.; ROSA, P.S.; FARIA FILHO, D.E.; FURLAN, R.L. Empenamento, níveis de triiodotironina e tiroxina e temperatura corporal de frangos de corte de diferentes genótipos criados em diferentes condições de temperatura. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 664-670, 2005.

DEL VESCO, A.P.; GASPARINO, E.; OLIVEIRA NETO, A.R.; GUIMARÃES, S.E.F.; MARCATO, S.M.M.; VOLTOLINI, D.M. Dietary methionine effects on IGF-1 and GHR mRNA expression in broilers. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 6414-6423, 2013.

DEL VESCO, A.P.; GASPARINO, E.; GRIESER, D.O.; ZANCANELA, V.; VOLTOLINI, D.M.; KHATLAB, A.S.; GUIMARÃES, S.E.F.; SOARES, M.A.M.; OLIVEIRA NETO, A.R. Effects of methionine supplementation on the expression of protein deposition-related genes in acute heat stress-exposed broilers. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. 1-11, 2015.

EBRAHIMZADEH, S.K.; FARHOOMAND, P.; NOORI, K. Immune response of broiler chickens fed diets supplemented with different level of chromium methionine under heat stress conditions. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 25, n. 2, p. 256-260, 2012.

EZZAT, W.; ABDALLAH, E.A.; RIZK, A.M.; OUDA, M.M.M.; ABD EL-KRIM, R.E. Impact of chromium picolinate supplementation on productive performance, immune response and heat shock proteins of broiler chickens under heat-stress condition. **Egyptian Poultry Science**, v. 37, n. 2, p. 559-583, 2017.

FU, W.J.; HU, J.; SPENCER, T.; CARROLL, R.; WU, G. Statistical models in assessing fold change of gene expression in real-time RT-PCR experiments. **Computational Biology and Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 21-26, 2006

GHAZI, S.H.; HABIBIAN, M.; MOEINI, M.M. Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 3, p. 309-317, 2012.

GILOH, M.; SHINDER, D.; YAHAV, S. Skin surface temperature of broiler chickens is correlated to body core temperature and is indicative of their thermoregulatory status. **Poultry Science**, v. 91, n. 1, p. 175-188, 2012.

GUPTA, S.C.; SIDDIQUE, H.R.; MATHUR, N.; VISHWAKARMA, A.L.; MISHARA, R.K.; SAXENA, D.K.; CHOWDHURI, D.K. Introduction of Hsp70, alteration in oxidative stress markers and apoptosis against dichlorvos exposure in transgenic *Drosophila melanogaster*: modulation by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta.**, v. 1770, n. 9, p. 1382-1394, 2007.

HABIBIAN, M.; GHAZI, S.; MOEINI, M. Lack of effect of dietary chromium supplementation on growth performance and serum insulin, glucose, and lipoprotein levels in broilers reared under heat stress condition. **Biological Trace Element Research**, v. 153, n. 1-3, p. 205-211, 2013.

IBRAHIM, D.K.; AL-MASHHADANI, E.H.; AL-BANDR, L.K. Effect of supplementing different levels of chromium yeast to diet on broiler chickens on some physiological traits. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 9, n. 10, p. 942-949, 2010.

JAHANIAN, R.; RASOULI, E. Dietary chromium methionine supplementation could alleviate immunosuppressive effects of heat stress in broiler chicks. **Journal Animal Science**, v. 93, n. 7, p. p. 3355-3363, 2015.

JAIN, S.K.; KANNAN, K. Chromium chloride inhibits oxidative stress and TNF- α secretion caused by exposure to high glucose in cultured U937 monocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 289, n. 3, p. 687-691, 2001.

KHAN, R.U.; NAZ, S.; DHAMA, K. Chromium: pharmacological applications in heat-stress in poultry. **International Journal of Pharmacology**, v. 10, n. 4, p. 213-217, 2014.

LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-428, 2001.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. Fisiologia aviária aplica a frangos de corte. Editora FUNEP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. 1994. 296 p.

MOHAMMED, H.H.; EL-SAYED, B.M.; ABD EL-RAZIK, W.M.; ALI, M.A.; ABD EL-AZIZ, R.M. The influence of chromium sources on growth performance, economic efficiency, some maintenance behaviour, blood metabolites and carcass traits in broiler chickens. **Global Veterinaria**, v. 12, n. 5, p. 599-605, 2014.

NOLLET, L.; HUYGHEBAERT, G.; SPRING, P. Effect of different levels of dietary organic (Biolpex) trace minerals on live performance of broiler chickens by growth phases. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, n. 1, p. 109–115, 2008.

NOORI, K.; FARHOOMAND, P.; EBRAHIMZADEH, S.K. Effect of chromium methionine supplementation on performance and serum metabolites in broiler chickens thermoneutral and under heat-stress conditions. **Iran Journal of Applied Animal Science**, v. 2, n. 1, p. 79-82 485, 2012.

NORAIN, T.M.; ISMAIL, I.B.; ABDOUN, K.A.; AL-HAIDARY, A.A. Dietary inclusion of chromium to improve growth performance and immune-competence

of broilers under heat stress. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 4, p. 562-566, 2013.

QUINTEIRO-FILHO, W.M.; RIBEIRO, A.; DE PAULA, V.F.; PINHEIRO, M.L.; SAKAI, M.; SÁ, L.R.; FERREIRA, A.J.; PALERMO-NETO, J. Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chicken. **Poultry Science**, v. 89, n. 9, p. 1905-1914, 2014.

RAJKUMAR, U.; VINOTH, A.; REDDY, E.P.K.; SHANMUGAN, M, RAO, S.V.R. Effect of supplemental trace minerals on HSP70 mRNA expression in commercial broiler chicken. **Animal Biotechnology**, v. 28, n. 1, p. 1-6, 2017.

RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.; PANDA, A.K.; POONAM, N.S.; MURTHY, O.K.; SUNDER, G.S. Effect of dietary supplementation of organic chromium on performance, carcass traits, oxidative parameters and immune responses in commercial broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 147, n. 1-3, p. 135-141, 2012.

RAO, S.V.R.; PRAKASH, B.; RAJU, M.V.L.N.; PANDA, A.K.; KUMARI, R.K. Effect of supplementing organic forms of zinc, selenium and chromium on performance, anti-oxidant and immune responses in broiler chicken reared in tropical summer. **Biological Trace Element Research**, v. 172, n. 2, p. 511-520, 2016.

RIBEIRO, A.M.L.; VOGT, L.K.; CANAL, C.W.; LAGANÁ, C.; STRECK, A.F. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos e sua ação sobre a

imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor.

Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, n. 4, p. 636-644, 2008.

RICHARDS, S.A. The significance of changes in the temperature of the skin and body core of the chicken in the regulation of heat loss. **Journal of Physiology**, v. 216, n. 1, p. 1-10, 1971.

ROLL, V.F.B.; LOPES, L.L.; ROSSI, P.; ANCIUTI, M.A.; RUTZ, F.; XAVIER, E.G.; SILVA, S.S. Hematology of broilers fed diets containing aflatoxins and mycotoxin adsorbent. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p. 93-101, 2010.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C. **Tabelas Brasileiras Para Aves E Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 3ª Edição. Viçosa: UFV. 252 p. 2011.

ROUHALAMINI, S.M.; SALARMOINI, M. Effect of zinc sulfate and organic chromium supplementation on the performance, body temperature, carcass characteristics, tibia ash and serum biochemical parameters of Japanese quails under heat stress conditions. **Journal of Livestock Science and Technologies**, v. 2, n. 1, p. 9-18, 2014.

SACHECK, J.M.; OHTSUKA, A.; MCLARY, S.C.; GOLDBERG, A.L. IGF-I stimulates muscle growth by suppressing protein breakdown and expression of atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 287, n. 4, p. 591-601, 2004.

SAEG - **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SAHIN, K.; KÜÇÜK, O.; SAHIN, N. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on performance and plasma concentrations of insulin and corticosterone in laying hens under low ambient temperature. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, n. 5-6, p. 142-147, 2001.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; ONDERIC, M.; GURSU, F.; CIKIM, G. Optimal dietary concentration of chromium for alleviating the effect of heat stress on growth, carcass qualities, and some serum metabolites of broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 89, n. 1, p. 53-64, 2002.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; KÜÇÜK, O. Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high environmental temperature (32°C). **Nutrition Research**, v. 23, p. 225-238, 2003.

SAHIN, N.; AKDEMIR, F.; TUZCU, M.; HAYRLI, A.; SMITH, M.O.; SAHIN, K. Effects of supplemental chromium sources and levels on performance, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in heat-stressed quails. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, n. 3-4, p. 143-149, 2010.

SAHIN, N.; HAYRLI, A.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; AKDEMIR, F.; KOMOROWSKI, J.R.; SAHIN, K. Effects of supplemental chromium form on performance and oxidative stress in broilers exposed to heat stress. **Poultry Science**, v. 96, n. 12, p. 4317-4324, 2017.

SAMANTA, S.; HALDAR, S.; BAHADUR, V.; GHOSH, T.K. Chromium picolinate can ameliorate the negative effects of heat stress and enhance performance, carcass and meat traits in broiler chickens by reducing the circulatory cortisol

level. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 88, n. 5, p. 787-796, 2008.

SIEGEL, H.S. Stress, strains and resistance. **British Poultry Science**, v. 36, n. 1, p. 3-22, 1995.

SILVA, S.R.G.; ABREU, M.L.T.; LOPES, J.B.; LEAL, D.I.B.; ALMENDRA, S.N.O.; SILVA, S.M.M.S.; COSTA, S.E.M. Desempenho e resposta imune de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com cromo na forma orgânica. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 21, n. 3, p. 199-203, 2014.

SOUZA, L.M.G.; MURAKAMI, A.E.; FERNANDES, J.I.M.; GUERRA, F.L.H.; MARTINS, E.M. Chromium influence on performance, meat quality and concentration of lipids in broiler blood plasma. **Brazilian Journal Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 808-814, 2010.

STEIBEL, J.P.; POLETTO, R.; COUSSENS, P.M.; ROSA, G.J.M. A powerful and flexible linear mixed model framework for the analysis of relative quantification RT-PCR data. **Genomics**, v. 94, n. 2, p. 146-152, 2009.

TOGHYANI, M.; SHIVAZAD, M.; GHEISARI, A.A.; ZARKESH, S.H. Performance, carcass traits and hematological parameters of heat-stressed broiler chicks in response to dietary levels of chromium picolinate. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 1, p. 65-69, 2006.

TOGHYANI, M.; TOGHYANI, M.; SHIVAZAD, M.; GHEISARI, A.A.; BAHADORAN, R. Chromium supplementation can alleviate the negative effects of heat stress on growth performance, carcass traits, and meat lipid oxidation of

broiler chicks without any adverse impacts on blood constituents. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 2, p. 171-180, 2012.

VANDESOMPELE, J.; PRETER, K.D.; PATTYN, F.; POPPE, B.; ROY, N.V.; PAEPE, A.D.; SPELEMAN, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, v. 3, n. 7, p. 1-12, 2002.

VIGNALE, K.; CALDAS, J.V.; ENGLAND, J.A.; BOONSINCHAI, N.; MAGNUSON, A.; POLLOCK, E.D.; DRIDI, S.; OWENS, C.M.; COON, C.N. Effect of white striping myopathy on breast muscle (Pectoralis major) protein turnover and gene expression in broilers. **Poultry Science**, v. 96, n. 4, p. 886-893, 2017.

VINCENT, J.B. The biochemistry of chromium. **Journal Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 715-718, 2000.

VINCENT, J.B. Chromium: celebrating 50 years as an essential element? **Dalton Transactions**, v. 39, n. 16, p. 3787-3794, 2010.

WEN, C.; JIANG, X.; DING, L.; WANG, T.; ZHOU, Y. Effects of dietary methionine on breast muscle growth, myogenic gene expression and IGF-1 signaling in fast-and- slow-growing broilers. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-7, 2017.

XIAO, F.; AO, D.; ZHOU, B.; SPEARS, J.W.; LIN, X.; HUANG, Y. Effects of supplemental chromium propionate on serum lipids, carcass traits, and meat quality of heat-stressed broilers. **Biological Trace Element Research**, v. 176, n. 2, p. 401-406, 2016.

APÊNDICE



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO
CEUAP/UFV

Campus Universitário – Viçosa, MG – 36570-900 – Telefone:(31) 3899.3275 – e-mail: ceuap@ufv.br – site: www.ceuap.ufv.br

Viçosa, 29/04/15

CERTIFICADO

A comissão de ética no uso de animais de produção da universidade federal de viçosa certifica que o **processo nº 15/2015**, intitulado “**Suplementação de cromo quelatado e de vitamina E para frangos de corte no período de 22 a 42 dias em condição de estresse por calor**”, coordenado pelo **prof(a). Luiz Fernando Teixeira Albino**, está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em **27/Abr/2015**.

CERTIFICATE

The ethic commission in use of production animals of universidade federal de viçosa certifies that the **process number 15/2015**, named “**Supplementation of chelate chromium and vitamin E for broilers from 22 to 42 days under stress conditions by heat**”, coordinated by **prof(a). Luiz Fernando Teixeira Albino**, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council of Animal Experimentation Control (CONCEA) and with actual Brazilian legislation, and was approved by this commission on **Apr, 27th, 2015**.

Mário Luiz Chizzotti
Coordenador da CEUAP/UFV